

Genetické dispozice k obezitě

Irena Aldhoon Hainerová

Klinika dětí a dorostu FNKV a 3. LF UK a Centrum
pro výzkum diabetu, metabolismu a výživy;
Endokrinologický ústav v Praze



Gregor Johann Mendel

- Přírodovědec, zakladatel genetiky a objevitel základních zákonů dědičnosti
- Mnich a později opat augustiniánského kláštera na Starém Brně

Prof. Artur Biedl

- Německý patolog a fyziolog narozený v Maďarsku.
- Profesor experimentální patologie na pražské německé univerzitě.
- V článku z roku 1922 popsal sestry s retinitis pigmentosa, polydaktylií, hypogonadismem a obezitou.

„Biedl A. Ein Geschwisterpaar mit adipose-genitaler dystrophie. Dtsch. Med Wochenschr 1922; 48: 1630.“

Úvod

- Studie na **dvojčatech, adoptivních** dětech koncem 80.let a začátkem 90. let 20.století – genetika hraje významnou roli v regulaci tělesné hmotnosti (*Stunkard AJ 1986, Sørensen TI 1989*); vliv genů na tělesnou hmotnost je ze **40-70 %**. (*Maes HH 1997*)
- Vliv **interakce genů s prostředím** (*Speakman JR 2006*), např. vliv na váhový přírůstek (*Bouchard 1997*) či váhovou redukci (*Hainer 2000*) ve studiích na dvojčatech.
- Klonování genu pro **leptin** v roce 1994 (*Friedman Nature 1994*)

Úvod

- Neomezený přístup k vysoce kalorickým potravinám, NICMÉNĚ dochází k nerovnoměrné distribuci obezity mezi jednotlivci a mezi populacemi. (*Neel JV 1962, Speakman JR 2013, Wells 2007, Watve MG 2007*)
- Existují určité populace vysoce náchylné k obezitě. (*Diamond J 2003, Beck-Nielsen HH 1999*)

→ **Spekulace o možném evolučním původu obezity**

Evoluční teorie původu obezity

- **„Thrifty gene hypothesis“ (teorie úsporných genů):** James Neel v roce 1962 – díky období hladomoru došlo k vyselektování genů podporující akumulaci tuku → nevysvětluje různorodost mezi jedinci a mezi jednotlivými populacemi. (Neel 1962)
- **Teorie zvýšené reprodukční kapacity (reproductive fitness hypothesis):** zvyšuje výskyt obezity. (Frisch 1987)
- **„Thrifty phenotype hypothesis“ (intrauterinní programování):** Hales a Barker v roce 1992 – podvýživa ve fetálním období je rizikovým faktorem pro rozvoj obezity a další chronické nemoci.
- **„Assortative mating hypothesis“:** cílený výběr partnerů tj. častější sňatky mezi obézními jedinci, 20násobek vyšší riziko pro potomka, pokud oba rodiče obézní. (Hebebrand 2000)
- **„Weather forecast models“:** fétus predikuje vnější prostředí na základě intrauterinních signálů, např. nutričních. Při expozici podvýživy in utero a následně obezitogennímu prostředí dojde k rozvoji metabolických onemocnění vč. obezity. (Bateson P 2001)

Evoluční teorie původu obezity

- **„Maternal fitness model“**: fetus využívá nutriční signály k tomu, aby se přizpůsobil metabolismu matky (*Wells JCK 2003*) → důležitost výživy matky v době gestace.
- **„Drifty gene/predation release hypothesis“**: geny ovlivňující tělesnou hmotnost se vymkly kontrole. (*Speakman JR 2007*)
- **„Behavioral switch hypothesis“**: sociální interakce jsou zásadní ve formování lidské evoluce (voják vs. diplomat). (*Watve MG 2007*)
- **Hypotéza životního stylu „sedentarismu“** (*Pate 2008*)
- **„Ethnic shift hypothesis“** (*Walley 2009*)
- **„Thrifty epigenome hypothesis“**: všichni jedinci mají „šetřící genom“, nicméně výsledný fenotyp záleží na epigenetických změnách vyvolaných prostředím. (*Stöger R 2008*)

Genetika ve vztahu k obezitě

Syndromy

Monogenní obezita

Polygenní obezita

Syndromy s obezitou

- minimálně 20 syndromů způsobených genetickým defektem či chromozomální abnormalitou, autozomálně či gonozomálně vázané, kromě obezity často mentální retardace, dysmorfické znaky, orgánové vývojové vady
(Farooqi 2008)

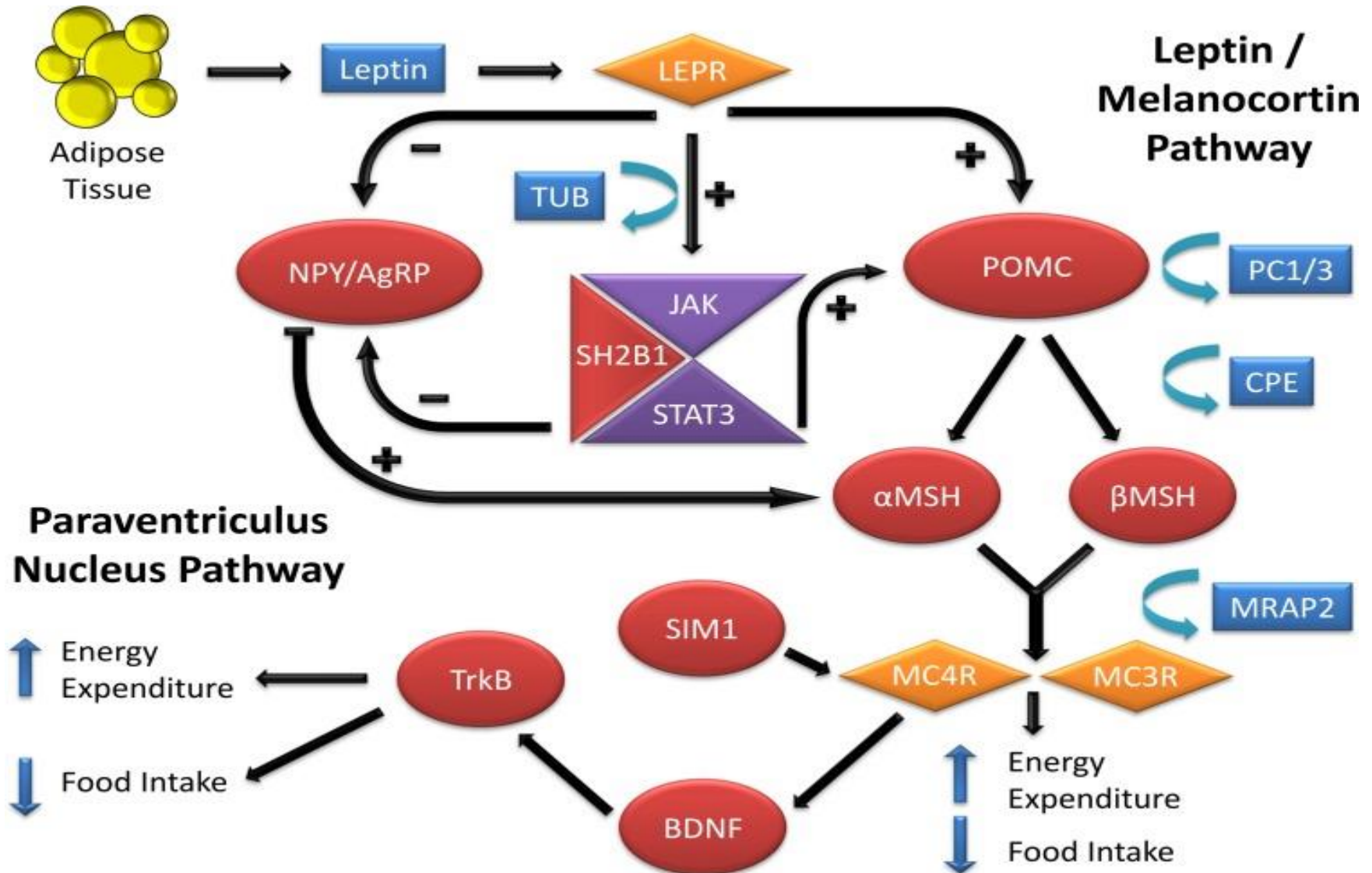
Monogenní formy obezity

- mutace jednoho genu vede k nárůstu tělesné hmotnosti, závažný fenotyp, časný vznik
(Aldhoon-Hainerová ČLČ 2014)

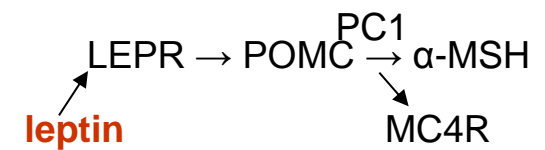
Monogenní obezita

- Zvířecí modely a studie na rodinách zejm. z příbuzenských sňatků vedly k identifikaci řady **genů** a důležitých regulačních cest (**leptinomelanokortinová osa**).
- Deset genů (**LEP, LEPR, PC1, POMC, MC4R, CPE, SIM1, BDNF, NTRK2, SH2B1**) – zasahují do neuronální diferenciacce paraventriculárního jádra hypothalamu a/či leptinomelanokortinové osy – vysvětlit až 10 % případů **těžké časně nastupující obezity s hyperfagií**. (*O'Rahilly S et al. Int J Obes 2008, 32: SS55-61*)
- Přiměřený PMV kromě deficitů brain-derived neurotrophic factor (**BDNF**), single-minded homolog 1 (**SIM1**) a neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2 (**NTRK2**) and Src homology 2 B adapter protein 1 (**SH2B1**), carboxypeptidáza (**CPE**) – kognitivní porucha, výchovné problémy, syndromologické znaky. (*Gray 2006, Holder 2000, Bonnefond 2013, Ramachandrapa 2013, Farooqi 2008, Yeo 2004, Doche 2012, Pearce 2014, Alsters 2015*)

Leptinomelanokortinová osa



Mutace *LEP*

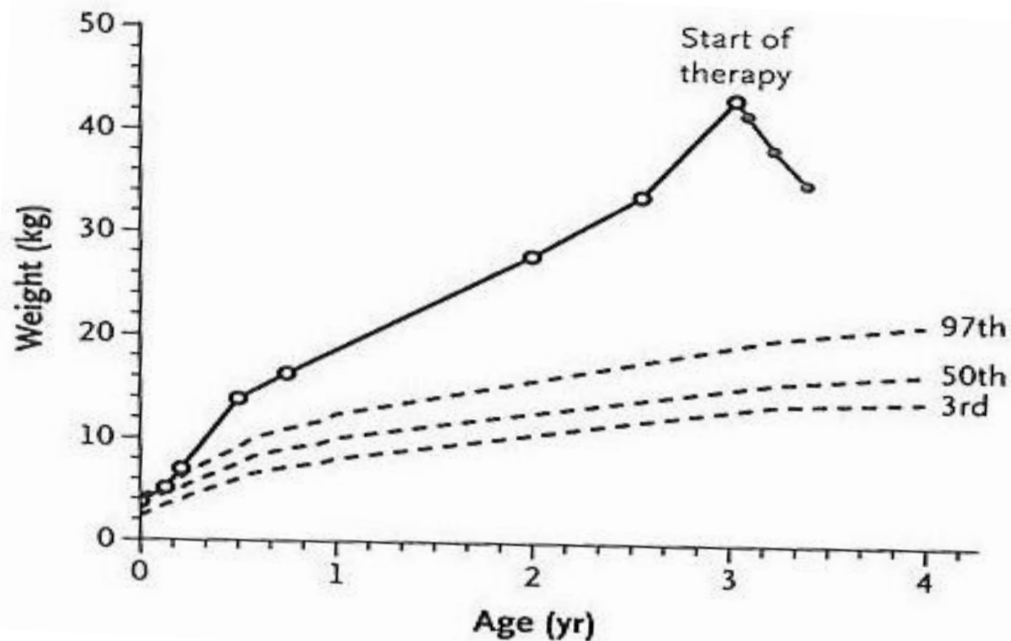


- **AR** dědičnost (Montague CT 1997, 2002, 2003)
- **Výskyt velmi vzácný**: cca 20 pacientů – Pakistánci (n=12), Turci (n=5), Egypťani (n=2) a Rakušan (n=1): **hyperphagie, porucha pocitu sytosti** → **časný vznik závažné obezity**
- **Hypogonadismus**
- Velmi nízké hladiny leptinu (~1 ng/ml) **ALE** byly nalezeny normální hladiny leptinu u 2letého hoch s mutací *LEP*: zřejmě porucha funkce proteinu než exprese (Wabitsch 2015)

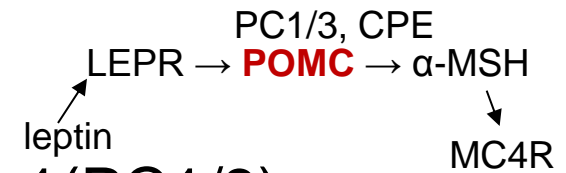
→ **Nemožno 100 % spoléhat na vyšetření hladiny leptinu k záchytu *LEP* mutací.**

Úspěšná léčba u jedinců s mutací *LEP*

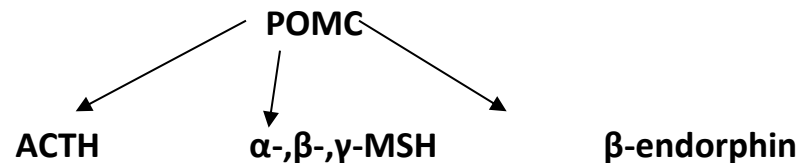
- S.c. inj. rekombinantní methionyl leptin (Amylin Pharmaceuticals, San Diego, USA) v 18 hod. v dávce 0.02-0.04 mg/kg/den
- Úprava klinických projevů



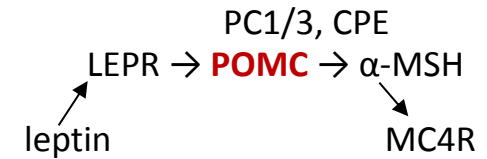
Mutace *POMC*



- Štěpen enzymy: prohormon konvertázou 1(PC1/3) a carboxypeptidázou E (CPE)
- Štěpné peptidy z POMC aktivují melanokortinové receptory – uplatňují se v **energetické bilanci** (α -MSH: MC4R, MC3R), **adrenální steroidogenezi** (ACTH: MC2R), **pigmentaci** (α -MSH: MC1R), **vnímání bolesti a analgézii** (β -endorfin: opioidní receptor), **centrální kontrole kardiovaskulárního systému** (γ -MSH), β -MSH (zřejmě role v energetické bilanci)

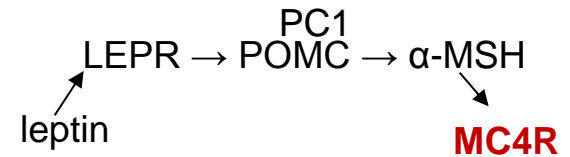


Deficit *POMC* u lidí



- **Adrenální insuficience** (první týdny: křeče, hypoglykémie), závažná **obezita s hyperfagií** (v průběhu prvního roku života) a **rusovlasost, bledá pokožka, ALE tmavé vlasy** u dívky původem ze severní Afriky a Hispánky (*Krude H 1998, 2002, Mendiratta 2011, Clément 2008*)

Mutace *MC4R*



- První heterozygotní mutace v *MC4R* u lidí nalezena v roce 1998 (*Vaisse 1998*)
- Výskyt: **2-6 %** u dětí a dospívajících s těžkou formou obezity, 1-2 % u obézních dospělých (*Hinney A 2006, Hainerova I 2007: 2,4%, Rouskas 2012*)
- **Velikost účinku** mutací *MC4R* je výrazně **nižší** než u mutací *LEP*, *LEPR* a *POMC*
- Většinou se jedná o heterozygotní mutace (různá penetrance apod.)

Homozygotní nositel mutace *MC4R*: Gly181Asp

- Těžká forma obezity od kojeneckého věku s hyperfagií, postupně dyslipidémie, hypertenze, inzulinová rezistence, jaterní steatóza, následně T2DM (*Hainerova / 2007*), pozitivní efekt sibutraminu v 18 letech (*Aldhoon-Hainerova / 2011*), nyní údajně kolem 150 kg, antidiabetika.

Polygenní obezity

Polygenní obezita: většina, genetická predispozice jedince ve vztahu s prostředím podporuje energetický příjem oproti výdeji. (*Hetherington 2010*)

Strategie výzkumu

- Založena na hypotézách výzkumem kandidátních genů či biologických cest.
- Bez hypotézy: celogenomové asociační a vazebné studie. (*Bendllová 2014*)

Monogenní varianty genů mající roli v polygenních formách obezity

- Běžné varianty v **LEP** (*Oksanen L et al. 1997, Jiang Y et al. 2004, Li WD et al. 1999*), **LEPR** (*Chagnon YC 2000, Masuo K 2008, Mizuta E 2008*), **PCSK1** (*Benzinou M 2008, Stijnen 2014, Nead 2015*), v blízkosti **SH2B1** (*Berndt 2013, Willer 2009, Tang 2014*), **MC4R** (*Hinney A 2013*) asociují s obezitou.
- Dva polymorfismy **MC4R** mají mírný protektivní efekt vůči obezitě. (*Hinney A 2013*)
- Role **MC3R** mutací v rámci monogenních obezit stále nekonzistentní (*Zegers 2013*), spíše zvyšují riziko vzniku obezity. (*Mencarelli 2011*)

Studie kandidátních genů ve vztahu k obezitě

- Založené na hypotéze, velmi používána před GWAS
- Kandidátní geny se **známou biologickou funkcí** ovlivňující daný znak (např. varianty z monogeních forem obezit), **ze zvířecích modelů** (knock-out či transgenní modely), **modely buněčných systémů, vazebné studie extrémních případů.**
- Vliv identifikované genetické varianty **velmi malý.**
- **Nevýhodou** je závislost na znalosti specifického genu, musí být většinou na velké kohortě s dostatečnou silou.

Studie kandidátních genů ve vztahu k obezitě

- Nejvíce studovaná varianta Pro12Ala peroxisome-activated receptor-gamma (PPAR γ) (*Deeb SS et al. 1998*)
- Poslední vydání „Human Obesity Gene Map“ zveřejnilo **127 kandidátních genů pro obezitu** (např. geny MC4R, LEP, adrenergní β 3 receptor (ADRB3), PCSK1, BDNF, endokanabinoidní receptor 1 (CNR1): *Rankinen 2006* – mnoho z nich se účastní **energetické homeostázi na centrální či periferní úrovni**

- **Obezita je multifaktoriální onemocnění ovlivněna řadou jednotlivých genů s malým vlivem.**
- **Strategie založena na celogenomových studiích.**

Celogenomové vazebné studie

- Mapují celý genom s cílem nalézt nové genové varianty.
- Poslední vydání „Human Obesity Gene Map“ publikovalo **253 lokusů** z 61 analýz celogenomových vazebných studií, **15 lokusů bylo replikováno více jak 3 studiemi.**
(Rankinen 2006)

→ **NICMÉNĚ** nebyly schopné určit, jaké geny či varianty stojí za vazebným signálem.

Celogenomové asociační studie (GWAS)

- Umožňují analyzovat mnoho jednonukleotidových polymorfismů najednou (SNPs) v rámci celého lidského genomu (0,5-1,5 miliónů SNPs).
- **Možnost objevení nových biologických pochodů a drah** ve vztahu k obezitě, bez prvotní znalosti funkce či hypotézy.
- **Vyšší rozlišovací schopnost než původní genomové vazebné studie** (genome-wide linkage studies), neboť GWAS jsou schopné přesněji určit místo asociace. *(Cheung 2012)*
- Poměrně úspěšná strategie od roku 2005.

GWAS: první varianta a zatím nejvýznamnější genová varianta

- **Insulin-induced gen 2 (INSIG2)**: první lokus ve vztahu k obezitě (*Herbert A 2006*) – nekonzistentní výsledky. (*Loos RJ 2007, Lyon HN 2007, Hotta K 2008*)
- **Fat mass and obesity-associated (FTO)**: první lokus potvrzující varianty s genetickou predispozicí k obezitě (*Frayling TM 2007, Zeggini E 2007*) – řada studií u dětí a dospělých z různých populací a etnik (evropské, africké, asijské) opakovaně potvrzující prvotní nálezy. (*Fawcett KA 2010, Hinney A 2007, Dina C 2007, Scuteri A 2007, Grant SF 2008*)

FTO

- 9 exonů, na 16. chromozomu, SNP v intronu *FTO* asociují se znaky obezity u lidí.
- Velikost účinku není srovnatelná s monogenními mutacemi, nicméně dosud **vykazuje nejsilnější asociaci v rámci běžných forem obezity** u lidí i díky **vysoké frekvenci** v populaci: MAF (frekvenci minoritní alely) SNP rs9939609 38-44% v kavkazské populaci, minoritní alela zvyšuje BMI o 0,39 kg/m² (~ 1130 g) a riziko obezity 1,2krát.

FTO: biologická funkce

- Myší studie prokázaly, že exprese *FTO* je v **mozku**, výše mRNA je závislá na příjmu potravy, **produkt FTO genu je 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase = enzym opravující DNA, též jadernou RNA** (*Gerken T 2007, Jia G 2011*)
- **Fto-/- myši**: postnatální růstová retardace, redukce tukové tkáně, nadbytek netukové tělesné hmoty (*Fischer J 2009*)
- **Vzácné varianty FTO**: AR smrtelný syndrom (1-30 měsíců), palestínští Arabové z rodiny příbuzenského sňatku, těžká růstová retardace a mnohočetné malformace vč. poruchy vizu a sluchu (*Boissel S 2009, Daoud 2016*) – vývoj CNS a KVS

FTO a příjem potravy

- Pozitivní asociace mezi rizikovou alelou *FTO* a **vyšším příjmem bílkovin** (effect per allele = 0.08 %, $P = 2.4 \times 10^{-16}$). (*Qi 2014*)
- Epidemiologické a funkční studie potvrzují roli *FTO* ve vztahu k riziku obezity prostřednictvím **změn v příjmu potravy a jídelních preferencí**. (*Loos 2014*)
- Rizikové alely *FTO* asociovaly s **rizikovějším jídelním chováním, vyšším příjmem tučných potravin a rafinovaných škrobů**. (*Harbron 2014*)
- 1953 **českých** adolescentů: *FTO* rs9939609 vykazoval vztah k **nižšímu příjmu vápníku** ($p=0.037$), po adjustaci na BMI nesignifikantní ($p=0.164$). (*Dusatkova L et al. Nutr Res 2015*)

FTO

- **FTO má zásadní roli v opravě či modifikaci nukleové kyseliny (vztah mezi tímto mechanismem a obezitou není zatím jasný).**
 - **Role FTO v kontrole příjmu potravy, energetického výdeje a energetické homeostázi.**
- **FTO je důležitý pro normální vývoj CNS a kardiovaskulárního systému u lidí.**

Meta-analýzy GWAS studií

- První multicentrická meta-analýza GWAS ze čtyř evropských populací (16.876 jedinců) objevila běžnou variantu blízko **MC4R** (rs17782313) – ovlivňuje množství tukové tkáně, hmotnost a riziko rozvoje obezity (*Loos RJ 2008*)
-
- GIANT meta-analýza 249.796 jedinců potvrdila 14 již známých lokusů predisponující k obezitě a objevila **18 nových lokusů** asociujících s BMI a CNV (copy number variant) blízko **GPRC5B** (*Speliotes EK 2010*)

GWAS u dětí

- **První výsledky publikované v roce 2010** – francouzské a německé kohorty s časnou obezitou – potvrzení nálezů u dospělých. (*Scherag A 2010*)
- 11 variant genů: TMEM18, SH2B1, KCTD15, PCSK1, BDNF, SEC16B, MC4R, a FTO u 1.443 **českých** adolescentů ve věku 13,0-17,9 let – pouze **FTO rs9939609** varianta **asociovala s nadváhou a obezitou** (OR 1.40, 95% CI 1.21-1.63, $P < 0.001$). (*Dušátková L et al. Folia Biol 2013*)
- Metaanalýza **14 GWAS databází** běžné obezity u dětí identifikovala dvě nové varianty **rs9568856** u **OLFM4** a **rs9299** v **HOXB5**. (*Bradfield JP 2012*)

- **Studie na kohortách dětí pomohly identifikovat další varianty ve vztahu k obezitě.**
- **Obě varianty mají roli v GIT – potvrzuje roli GIT v BMI od raného dětství.**

GWAS a Metabochip meta-analýza BMI = největší studie

- N=339.224 jedinců ze 125 studií. (*Locke, Nature 2015*)
- 97 BMI-asociujících lokusů, 56 nových – cca **2.7 % BMI variabilitu**.
- Nově identifikované varianty mají **nižší frekvenci výskytu a/či menší velikost vlivu než předchozí**
- **Celkový vliv zásadních SNP v 97 lokusech** – průměrné zvýšení o **0.1 BMI** jednotek na BMI-rizikovou alelu (cca 260-320 g pro jedince výšky 170 cm).

- **Běžné varianty asociující s BMI mají podobný vliv mezi pohlavími i rasami.**
- **Dosud bylo identifikováno celkem 119 nezávislých lokusů asociovaných s BMI a obezitou.**

(*Choquet 2011, Fall T 2014, Speliotes EK 2010, Locke 2015*)

Vliv genových variant: příjem potravy, jídelní preference, jídelní chování, váhová odpověď na změnu

- GWAS: několik polymorfismů genů (vč. *TBX15*, *HOXC13*, *RSPO3* and *CPEB4*) – asociace s **distribucí tuku** (*Schleinitz 2014*)
- **25 variant (7 nově objevených)** identifikovány jako kandidáti **metabolického syndromu** (*Kraja 2014*)
- ***MC4R* rs17782313 a *BDNF* rs925946** zvyšovaly riziko **metabolického syndromu** u 1.443 **českých** adolescentů (OR 1.53, 95% CI 1.14-2.04, P = 0.005; 1.51, 95% CI 1.12-2.04, P = 0.009), nejspíše svým vlivem na **abdominální obezitu**. (*Dušátková L et al. Folia Biol 2013*)
- **Nízká vnímavost sytosti** (*Llewellyn Jama Pediatr 2014*)
- Vliv na **energetický výdej**: aktivní pohyb, sedentarismus (*den Hoed 2013*)

Funkce genů v asociovaných lokusech

- Biologické kategorie (n=25) – **nejvíce neuronální procesy** (funkce hypothalamu, energetická homeostáza, neuronální vývoj), **nové cesty v CNS**: neurotransmitery apod. (signalizace glutamátu, noradrenalinu, dopaminu a serotoninu, aktivita GABA receptoru), **homeostáza glukózy a tuků, buněčné procesy**. (Locke 2015)

→ **Zásadní role nervového systému v regulaci BMI**
→ **Objevení nových cest může pomoci při hledání efektivnější strategie hmotnostní redukce (i pro farmakoterapii).**

Interakce genů s prostředím

- Další strategie: místo jednotlivých genetických variant používat celkové genetické rizikové skóre - **genetic risk sum scores**. *(Peterson 2011)*
- Zdravý životní styl a nekuřáctví mohou **snížit genetickou predispozici** (genetické rizikové skóre) k obezitě u dospělých. *(Johnson 2014)*
- Jak **příjem makronutrientů**, tak **pohybová aktivita** změnilo genetickou predispozici u postarších japonských mužů. *(Tanisawa 2014)*

Další možnosti vlivu genetiky?

- Počet identifikovaných lokusů s jasnou asociací odpovídá za ~ **2,7 % variabilitu BMI**

Změna počtu kopií genetického materiálu (Copy number variants)

- Produkty genomových úprav – delecí, duplikací, inverzí, translokací
- Např. chromozomální delece alespoň 593 kb 16p11.2: těžká časně vzniklá obezita, hyperphagie, těžká IR a opoždění PMV – zaznamenáno až v 0,7 % morbidně obézních pacientů (*Bochukova EG 2010, Walters RG 2010, Jacquemont S 2011*)

Mitochondriální změny přispívající k obezitě

- Obezita navozená výživou u matky může změnit mitochondriální aktivitu a metabolismus u myších oocytů a zygot *(Igosheva 2010, Wakefield 2008, Mitchell 2009)*

→ Mitochondrie jsou buď „viníkem“ či „obětí“ obezity – zajímavá organela pro studium v souvislosti s obezitou navozenou výživou.

Epigenetika

Závěry

- Výzkum **monogenních obezit** vedl k významným objevům v porozumění **řízení energetické bilance** na úrovni CNS.
- **GWAS** objevili nové genetické varianty zvyšující predispozici k obezitě, je identifikováno 119 genových variant s malým vlivem (180 -1400 g) – dosud bylo vysvětleno cca **2,7 % variability BMI**.
- Ve většině případech **není známa funkce** genových variant, nicméně většina genů ovlivňující nějakým způsobem hmotnost se exprimuje v hypothalamu → potvrzuje zásadní **roli CNS** v regulaci tělesné hmotnosti.

Závěry

- **Nové technologie** k analýzám dat (biostatistika) jsou potřeba k odhalení dalších faktorů vysvětlující genetické pozadí obezity.
- **Epigenetika a její biomarkery** mohou predikovat individuální riziko k rozvoji obezity v mladém věku ještě před rozvojem obezity.
- **Pre- a postnatální prostředí** hraje klíčovou roli v predispozici k obezitě, vč. komplikací. *(Bouret 2015)*
- **Interakce gen-gen a gen-prostředí** je další oblastí výzkumu ve vztahu k rozvoji obezity.

Výzkum genetickým predispozic i monogenně podmíněných forem či syndromů nadále rozšíří poznání týkající se patofyziologických procesů energetické bilance a snad do budoucna i pomůže v individualizaci efektivní terapie obezity.

E-mail: ihainer@hotmail.com