

Czy polimorfizm genu *FTO* (fat mass and obesity associated) jest markerem otyłości świni?

Sylwia Salamon, Maria Grześ, Marek Świtoński

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Odkrycie związku niektórych wariantów genu *FTO* ze wzrostem indeksu masy ciała (BMI) oraz otyłością dzieci i dorosłych [2, 10] uruchomiło szerokie badania, wykorzystujące techniki *in silico*, *in vitro* oraz *in vivo*, w odniesieniu do człowieka i niektórych gatunków zwierząt, w tym gospodarskich. Jednym z kierunków badawczych rozwijanych u zwierząt gospodarskich jest poszukiwanie związku polimorfizmów tego genu z cechami otyłości świni. Badania te zaowocowały ukazaniem się kilku prac na ten temat [3, 4, 5, 8, 9]. W 2009 roku na łamach „Przeglądu Hodowlanego” opublikowany został artykuł opisujący pierwsze badania tego genu [1], a niniejsze opracowanie jest jego rozwinięciem, bazującym na pracach źródłowych, które ukazały się w ostatnich dwóch latach.

Gen *FTO* świni zbudowany jest z 9 eksonów poprzedzielanych intronami i łącznie obejmuje ponad czterysta tysięcy nukleotydów [12, 13]. Gen *FTO* został zlokalizowany w chromosomie 6 świni, pomiędzy markerami S0297 i S0502 [8], a w najbliższym sąsiedztwie położony jest marker S0087 [9, 14]. Jest to region sąsiadujący z QTL (*locus* cechy ilościowej) dla kilku ważnych cech, takich jak: grubość słoniny (BF), średni dzienny przyrost masy ciała (ADG) [4] i zawartość tłuszczu śródmięśniowego (IMF) [9]. Porównawcza analiza regionu regulatorowego (sekwencja 5' flankująca) genu *FTO* 20 gatunków (m.in. świnia domowa, człowiek, szympan, krowa, mysz, szczur) wykazała obecność czterech konserwatywnych segmentów, o długościach: 1069 pz, 969 pz, 1024 pz oraz 1612 pz (odpowiednio: region A, B, C i D). Homologia sekwencji u badanych gatunków wynosi od 1 do 89%. Ponadto w każdym z regionów zlokalizowane są potencjalne miejsca przyłączania czynników transkrypcyjnych (TFBS). W jednym z ww. konserwatywnych segmentów (region C) u świni, obecne jest potencjalne miejsce wiązania dla czynnika *FKHR* (ang. forkhead transcription factor), który jest ważnym mediatorem działania insuliny w modulowaniu glukoneogenezy w wątrobie, a jego ekspresja jest silnie związana z predyspozycją do rozwoju cukrzycy. Także inne czynniki transkrypcyjne (np. *Dmrt1*, *BRNF*, *HOMF*, *GATA*), potencjalnie wiążące się z sekwencją regulatorową, są w różnym stopniu związane z odkładaniem tkanki tłuszczowej [13].

Sekwencja aminokwasowa białka kodowanego przez gen *FTO* jest wysoce konserwatywna u ssaków (m.in. człowiek, gryznie i kilka gatunków zwierząt domowych), co pośrednio świadczy o znaczeniu biologicznym tego białka [8]. Dokładny mechanizm wpływu *FTO* na rozwój otyłości jest jednak nadal obiektem badań. Analizy bioinformatyczne wykazały, że gen ten koduje białko o funkcji demetylasy kwasów nukleinowych zależ-

nej od 2-oksoglutaranu, które bierze udział w naprawie DNA, metabolizmie kwasów tłuszczowych oraz modyfikacjach posttranslacyjnych [11]. Myszy z nokautem omawianego genu charakteryzowały się zredukowaną ilością tkanki tłuszczowej, zwiększonym wydatkowaniem energii, a także aktywacją układu współczulnego. Wskazuje to na funkcjonalne zaangażowanie genu *FTO* w homeostazę energetyczną [7].

U ludzi i myszy gen *FTO* ulega ekspresji w wielu tkankach, głównie w mózgu, a w szczególności w podwzgórzu [10, 11]. U świni wykazano, że poziom ekspresji *FTO* jest 7 do 12 razy wyższy w mózgu, niż w innych tkankach (m.in. serce, nerki, płuca, mięśnie, tkanka tłuszczowa). Z kolei w mózgu najwyższy poziom ekspresji *FTO*, w porównaniu z hipokampem i korą mózgową, występuje w mózdzku. Dowiedziono również, że model ekspresji omawianego genu jest różny w korze mózgowej i mózdzku, w trzech badanych stanach rozwojowych (50. i 100. dzień ciąży, dojrzałość). W korze poziom ekspresji *FTO* wzrasta w okresie między 50. a 100. dniem ciąży, a następnie spada w wieku dojrzałym. Przeciwna sytuacja ma miejsce w przypadku mózdzku, gdzie ekspresja *FTO* jest wysoka w 50. dniu ciąży, następnie obniża się o około połowę (100. dzień ciąży), by znowu wzrosnąć u dorosłych osobników. Innymi słowy, poziom mRNA genu *FTO* zmienia się odmiennie w korze i mózdzku. Łącząc te wnioski z przypuszczalną rolą *FTO* w demetylacji DNA, można wskazać, że produkt tego genu jest związany ze zróżnicowanym przebiegiem tego procesu w różnych częściach mózgu i w różnych stadiach rozwoju osobniczego.

Zbadano ponadto różnice w ekspresji genu *FTO* w dwóch grupach miniaturowych świni rasy göttingen, uznawanych za dogodny model w badaniach nad cukrzycą i zespołem metabolicznym. Zwierzęta były żywione mieszanką wysokocholesterolową lub normalną. W tak przeprowadzonym doświadczeniu znaczące różnice wykazano jedynie pomiędzy poziomem ekspresji w mózdzku i korze mózgowej u świni poddanych diecie wysokocholesterolowej. Może się zatem wydawać, że na ekspresję genu *FTO* może wpływać rodzaj spożywanej paszy (np. o wysokiej zawartości tłuszczu). Podsumowując, Madsen i wsp. wykazali, że poziom ekspresji *FTO* w korze oraz w mózdzku jest zróżnicowany w zależności od etapu rozwoju mózgu i diety [14]. W innych badaniach porównano poziom ekspresji genu *FTO* u świni kastrowanych i nie poddanych temu zabiegowi. Wynika z nich, że poziom ekspresji w podwzgórzu jest znacząco wyższy u świni poddanych kastracji. Jednak nie zaobserwowano znaczących różnic w poziomie ekspresji *FTO* w brzusznej tkance tłuszczowej i słoninie, pomiędzy badanymi grupami świni [12].

Proces usunięcia intronów (splicing) i połączenia eksonów z prekursorowego mRNA zachodzi podczas obróbki potranskrypcyjnej, a tzw. alternatywny splicing polega na połączeniu eksonów w innej kolejności lub z pominięciem całego eksonu lub jego części. W taki sposób z jednego genu mogą powstawać różne cząsteczki mRNA. Huang i wsp. wysunęli hipotezę, że różne warianty splicingowe genu *FTO* mogą być zaangażowane w różne fizjologiczne funkcje i formy regulacji komórkowej [12]. Aby to zweryfikować, analizowano RNA wyizolowane z podwzgórza, słoniny i brzusznej tkanki tłuszczowej, pochodzące od świni ras wielka biała, pietrain i dwóch ras rodzimych (chińska lantang i tybetańska). Znaleziono 3 nowe warianty splicingowe – pominięcie 123 nt (AS1) i 36 nt w eksonie 3 (AS2), a także 5 nt w eksonie 7 (AS3) – w tkance tłuszczowej świni ras wielka biała i rodzima tybetańska. Może to świadczyć, że różne

warianty splicingowe są rasowo i tkankowo specyficzne. Częstość wystąpienia alternatywnego splicingu w 166 analizowanych sekwencjach była jednak niska i wynosiła 1,2%. Kompletna sekwencja kodująca genu *FTO* posiada największą aktywność transkrypcyjną, lecz nie wykluczone, że trzy nowo zidentyfikowane warianty splicingowe mogą odpowiadać za różne funkcje genu *FTO* [12].

Badania związku polimorfizmu genu *FTO* z indeksem masy ciała (BMI) i ryzykiem nadwagi oraz otyłości u ludzi potwierdziły istnienie takiej zależności w wielu populacjach, m.in. kaukaskich, czyli rasie białej (wielokrotnie), azjatyckiej, meksykańskiej i afrykańskiej [6]. Najczęściej analizowany był związek pomiędzy zlokalizowanym w intronie polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (SNP) a indeksem masy ciała (BMI). Należy jednak zaznaczyć, że wśród wielu przeprowadzonych w ostatnich latach badań znalazły się zarówno takie, które nie odnotowały związku polimorfizmu genu *FTO* z pobieraniem pokarmu, jak również wykazujące asocjacje ze zwiększeniem poboru energii lub preferowaniem przyjmowania wysokoenergetycznych pokarmów. Te ostatnie były przeprowadzane na dużej grupie dzieci, których dieta była raportowana przez rodziców, a więc wydają się być bardziej miarodajne. Interesujący jest fakt, że u człowieka nie wykazano asocjacji polimorfizmu genu *FTO* z wydatkowaniem energii, mimo że przeciwstawne wyniki otrzymano dla myszy. Ponadto, niektóre wyniki wskazują na asocjację z podwyższonym poziomem triglicerydów i cholesterolu u ludzi [6].


Pierwsze doniesienia o związku polimorfizmu genu *FTO* z cechami otyłości u świń ukazały się w 2009 roku i zapoczątkowało to serię badań asocjacyjnych. W rezultacie sekwencjonowania eksonu 4, flankujących go części intronów 3 i 4 oraz dwóch fragmentów 3'UTR, Fontanessi i wsp. zidentyfikowali trzy polimorfizmy typu SNP (dwa w intronie 4 oraz jeden w 3'UTR). Jeden z nich – zlokalizowany w intronie 4 (g.276 T>G), wykazał asocjację z zawartością tłuszczu śródmięśniowego w rasie duroc oraz zależność z konwersją paszy w rasie włoskiej wielkiej białej [8, 9]. Z kolei analiza populacji pochodzącej z krzyżowania ras berkshire x yorkshire pozwoliła zidentyfikować kolejne dwanaście polimorfizmów, z których dwa wzbudziły największe zainteresowanie. Pierwszy z nich to polimorfizm c.594 C>G powodujący substytucję Ala198Ala w eksonie 3. Związany jest on ze średnim dziennym przyrostem masy ciała (ADG-TEST) oraz grubością słoniny (BF) i procentową zawartością tłuszczu w mięśniach [4]. Substytucja C>G w pozycji 594 nukleotydu wykazuje ponadto związek z RFI (ang. residual feed intake), czyli różnicą pomiędzy obserwowanym i oczekiwanym poborem pokarmu, zależnym od stopnia rozwoju i masy ciała [5]. Drugi polimorfizm (c.46-139 A>T), zlokalizowany w intronie 1, wykazywał asocjację z przyrostem masy ciała (ADGTEST) [4].

Najnowsze badania wskazują na wysoki polimorfizm tego genu, udało się bowiem zidentyfikować około 40 nowych polimorfizmów typu SNP [13, 14]. Wśród nich co najmniej 15 występuje w obrębie sekwencji potencjalnie rozpoznawanych przez czynniki transkrypcyjne. Co więcej, owe 15 polimorfizmów położone jest w regionie chromosomu 6 (od pozycji 21 536 280 do 21 538 280 nukleotydu), w którym znaleziono 9 różnych QTL dla cech związanych z zawartością tłuszczu śródmięśniowego i grubością słoniny [13].

Przytoczone powyżej wyniki najnowszych badań wskazują, że polimorfizm genu *FTO* jest obiecującym markerem cech

otyłości u świń. Ponieważ świnia domowa jest gatunkiem wykazującym duże podobieństwo anatomiczne i fizjologiczne do człowieka, uznawana jest za przydatny gatunek modelowy do badań nad otyłością człowieka. Być może wysoki poziom konserwatywności ewolucyjnej w zakresie budowy genu i kodowanego białka *FTO* pomoże, dzięki badaniom prowadzonym na świni, w wyjaśnieniu roli, jaką ten gen pełni w odkładaniu się tkanki tłuszczowej oraz w procesie homeostazy energetycznej u ludzi.

Literatura: 1. Buszka A., Kręgielska D., Szydłowski M., 2009 – Przegąd Hodowlany 5, 8-9. 2. Dina C., Meyre D., Gallina S., Durand E., Körner A., Jacobson P., Carlsson L.M., Kiess W., Vatn V., Lecoeur C., Delplanque J., Vaillant E., Pattou F., Ruiz J., Weill J., Levy-Marchal C., Horber F., Potoczna N., Hercberg S., Le Stunff C., Bougnères P., Kovacs P., Marre M., Balkau B., Cauchi S., Chèvre J.C., Froguel P., 2007 – Nat. Genet. 39(6), 724-726. 3. Du Z.Q., Fan B., Zhao X., Amoako R., Rothschild M.F., 2009 – Obesity 17(2),323-329. 4. Fan B., Du Z.Q., Rothschild M.F., 2009 – Anim. Biotechnol. 20(2), 58-70. 5. Fan B., Lkhagvadorj S., Cai W., Young J., Smith R.M., Dekkers J.C., Huff-Lonergan E., Lonergan S.M., Rothschild M.F., 2010 – Meat Sci. 84(4), 645-650. 6. Fawcett K.A., Barroso I., 2010 – Trends Genet. 26(6), 266-274. 7. Fischer J., Koch L., Emmerling C., Vierkotten J., Peters T., Brüning J.C., Rütter U., 2009 – Nature 16; 458(7240), 894-898. 8. Fontanessi L., Scotti E., Buttazzoni L., Davoli R., Russo V., 2009 – Anim Genet. 40(1), 90-93. 9. Fontanessi L., Scotti E., Buttazzoni L., Dall'Olio S., Bagnato A., Lo Fiego D.P., Davoli R., Russo V., 2010 – Mol. Biol. Rep. 37(1), 461-466. 10. Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N., Zeggini E., Freathy R.M., Lindgren C.M., Perry J.R., Elliott K.S., Lango H., Rayner N.W., Shields B., Harries L.W., Barrett J.C., Ellard S., Groves C.J., Knight B., Patch A.M., Ness A.R., Ebrahim S., Lawlor D.A., Ring S.M., Ben-Shlomo Y., Jarvelin M.R., Sovio U., Bennett A.J., Melzer D., Ferrucci L., Loos R.J., Barroso I., Wareham N.J., Karpe F., Owen K.R., Cardon L.R., Walker M., Hitman G.A., Palmer C.N., Doney A.S., Morris A.D., Smith G.D., Hattersley A.T., McCarthy M.I., 2007 – Science 11; 316(5826), 889-894. 11. Gerken T., Girard C.A., Tung Y.C., Webby C.J., Saudek V., Hewitson K.S., Yeo G.S., McDonough M.A., Cunliffe S., McNeill L.A., Galvanovskis J., Rorsman P., Robins P., Prieur X., Coll A.P., Ma M., Jovanovic Z., Farooqi I.S., Sedgwick B., Barroso I., Lindahl T., Ponting C.P., Ashcroft F.M., O'Rahilly S., Schofield C.J., 2007 – Science 30; 318(5855), 1469-1472. 12. Huang J., Liu G., Liu Y., Yao Y., Wu K., Fang M., 2010 – DNA Cell Biol. 29(12),729-733. 13. Huang J., Yang Y., Liu G., Zhang J., Dong X., Bai Y., Fang M., 2010 – Mol. Biol. Rep. DOI 10.1007/s11033-010-0431-5. 14. Madsen M.B., Birck M.M., Fredholm M., Cirera S., 2010 – Anim. Biotechnol. 21(1), 51-63.



Zakład Deratyzacji „SZCZUROŁAP”

Wiesław i Jarosław Dobrzeńcecy
ul. Graniczna 10
87-100 Toruń
tel. (56) 655-21-41 lub 654-65-47
tel. kom. 601-212-487

Wyniszczam całkowicie bytujące i dochodzące szczury, z gwarancją. Fermy, mieszalnie pasz, zakłady rolne, magazyny, bezpieczeństwo 100%. Metodę przedstawiłem w filmie „Szczurołap”. Dla zainteresowanych wdrażamy HACCP.