



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

mgr Maurycy Pawlak

Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

**„Badanie wpływu wybranych polimorfizmów genu receptora
endokannabinoidowego (*CNR1*) na ilość i dystrybucję tkanki
tłuszczowej u kobiet postmenopauzalnych”**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii
medycznej

Promotor: prof. dr hab. n. med. Andrzej Milewicz
Katedra i Klinika Endokrynologii,
Diabetologii i Leczenia Izotopami
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich
we Wrocławiu

Recenzenci: prof. dr hab. n. med. Małgorzata Karbownik-Lewińska
Katedra Endokrynologii Onkologicznej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

prof. dr hab. n. med. Barbara Krzyżanowska-Świniarska
Klinika Hipertensjologii i Chorób Wewnętrznych
Pomorski Uniwersytet Medyczny

Wrocław 19.12.2014

Curriculum Vitae

Data urodzenia: 08.11.1985

Miejsce urodzenia: Wałbrzych

WYKSZTAŁCENIE :

2007 – 2009 Uniwersytet Wrocławski,
dyplom magistra nauk biologicznych

2004 – 2007 Uniwersytet Wrocławski,
dyplom licencjata nauk biologicznych.

PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ:

2012 – obecnie Katedra Fizjoterapii i Terapii Zajęciowej
AWF we Wrocławiu

08.2013 – 10.2013 Katedra i Klinika Endokrynologii,
Diabetologii i Leczenia Izotopami
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

DOROBEK NAUKOWY

Autor/współautor: 7 publikacji, 8 doniesień zjazdowych

Publikacje naukowe:

1. Maurycy Pawlak, Łukasz Łaczmański, Andrzej Milewicz.: Rola układu endokannabinoidowego i polimorfizmów genu CNR1 w powstawaniu otyłości Endokrynol.Otył.Zab.Przem.Mat. 2011 T.7 nr 3; s. 192–196
2. Łukasz Łaczmański, Andrzej Milewicz, Katarzyna Dunajska, Diana Jędrzejuk, Maurycy Pawlak, Felicja Lwow.: Endocannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) polymorphisms (rs806381, rs10485170, rs6454674, rs2023239) and cardiovascular risk factors in postmenopausal women Gynecol.Endocrinol. 2011 Vol.27 no.12; s.1023–1027
3. Andrzej Milewicz, Urszula Tworowska–Bardzińska, Diana Jędrzejuk, F. Lwow, K. Dunajska, Łukasz Łaczmański, Maurycy Pawlak.: Are endocannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) polymorphisms associated with obesity and metabolic syndrome in postmenopausal Polish women? Int.J.Obes. 2011 Vol.35 no.3; s.373–377
4. Łukasz Łaczmański, Andrzej Milewicz, Felicja Lwow, Monika Puzianowska–Kuznicka, Maurycy Pawlak, Katarzyna Kolackov, Diana Jędrzejuk, Barbara Krzyżanowska–Świniarska, Ewa Bar–Andziak, Jerzy Chudek, Małgorzata Mossakowska.: Vitamin D receptor gene polymorphism and cardiovascular risk variables in elderly Polish subjects Gynecol.Endocrinol. 2013 Vol.29 no.3; s.268–272
5. Agnieszka Lenarcik–Kabza, Łukasz Łaczmański, Andrzej Milewicz, Bożena Bidzińska–Speichert, Maurycy Pawlak, Katarzyna Kolackov, Justyna Kuliczowska–Płaksej, Anna Trzmiel–Bira, Anna Brona.: The influence of endocannabinoid receptor 1 gene variations on anthropometric and metabolic parameters of women with polycystic ovary syndrome. Endokrynol.Pol. 2014 T.65 nr 3; s.181–188
6. Łukasz Łaczmański, Andrzej Milewicz, Monika Puzianowska–Kuznicka, Felicja Lwow, Katarzyna Kolackov, Urszula Mieszczanowicz, Maurycy Pawlak, Barbara Krzyżanowska–Świniarska, Ewa Bar–Andziak, Jerzy Chudek, Małgorzata Mossakowska.: Interrelation between genotypes of the vitamin D receptor gene and serum sex hormone concentrations in the Polish elderly population: the PolSenior study Exp.Gerontol. 2014 Vol.57; s.188–190
7. Felicja Lwow, Anna Trzmiel–Bira, Łukasz Łaczmański, Jakub Trnka, Maurycy Pawlak, Katarzyna Balawejder Expectations of institutional assistance to patients with Alzheimer disease (AD) and their caregivers. Pilot studies. – Physiotherapy/Fizjoterapia, 2012/3/1

STRESZCZENIE

Wstęp

Otyłość jest jednym z najpowszechniejszych zagrożeń zdrowotnych dotyczących zarówno grupy dzieci, młodzieży jak i osób dorosłych. W wieloczynnikowej etiologii istotną rolę odgrywają czynniki środowiskowe oraz genetyczne. Wśród przyczyn związanych z podłożem genetycznym wymienia się udział genu *CNR1* odpowiedzialnego za kodowanie receptorów endokannabinoidowych typu 1 (CB1), będących jedną ze składowych części układu endokannabinoidowego. Układ ten odpowiedzialny jest między innymi za regulację homeostazy energetycznej organizmu poprzez oddziaływanie zarówno na behawioralne jak i fizjologiczne procesy związane z przyjmowaniem pokarmów. Receptory CB1 rozmieszczone są w ośrodkowym układzie nerwowym oraz w tkankach obwodowych. Znajdują się także w tkance tłuszczowej i mogą mieć wpływ na jej funkcjonowanie.

Cel Pracy

Celem pracy było określenie wpływu wybranych polimorfizmów genu receptora endokannabinoidowego typu pierwszego: rs6454674, rs1049353, rs806381, rs2023239 na ilość tkanki tłuszczowej w badanej grupie kobiet pomenopauzalnych. Ocena czy polimorfizmy genu *CNR1*: rs6454674, rs1049353, rs806381, rs2023239 mają wpływ na dystrybucję tkanki tłuszczowej w badanej grupie kobiet pomenopauzalnych.

Materiały i metody

Przebadany został zarchiwizowany materiał genetyczny DNA 271 kobiet w przedziale wiekowym od 50 do 60 roku życia. Grupa została wybrana spośród mieszanek miasta Wrocław w ramach prowadzonego grantu nr: 2P05D 004 28. Do badanej grupy zakwalifikowane zostały kobiety, u których okres pomiędzy ostatnią miesiączką a przystąpieniem do badania wynosił co najmniej 12 miesięcy. Kryteriami wykluczającymi były: palenie tytoniu, stosowanie leków wpływających na gospodarkę węglowodanową i lipidową oraz przyjmowanie hormonalnej terapii zastępczej. Udział

w badaniu wykluczała również menopauza chirurgiczna oraz choroby nowotworowe.

W pracy wykorzystano wyniki pomiarów wskaźników antropometrycznych (wzrostu, masy ciała, obwodu talii i obwodu bioder) dokonanych w trakcie rekrutacji kobiet natomiast badanie genetyczne zostało przeprowadzone na zarchiwizowanym materiale genetycznym pochodzącym z krwi obwodowej. DNA zostało wyizolowane z komórek leukocytów metodą kolumnkową, a następnie poddane łańcuchowej reakcji przy udziale polimerazy PCR. W celu powielenia pożądanych fragmentów genu *CNR1* zawierających polimorfizmy rs1049353, rs2023239, rs6454674 i rs806381 zastosowano zaprojektowane wcześniej startery oparte na sekwencjach genu pozyskanych z bazy bibliograficznej PubMed. Obrazowanie uzyskanych fragmentów przeprowadzono za pomocą techniki elektroforetycznej przeprowadzonej na żelu agarozowym i chipie (Expirion). W celu identyfikacji polimorfizmów zastosowano metodę minisekwencjonowania, a wyniki potwierdzono za pomocą sekwencjonowania. Pozyskane dane analizowano przy użyciu nieparametrycznych testów statystycznych Kruskala–Wallisa i U Manna–Withneya.

Wyniki

Analizując częstość występowania poszczególnych polimorfizmów genu *CNR1* w badanej grupie pod względem rozkładu alleli recesywnych i dominujących wykazano, że ich rozkład jest zgodny z założeniami prawa Hardy'ego – Weinberga. W przypadku badania w ramach pracy doktorskiej powiązania pomiędzy wskaźnikami ilości tkanki tłuszczowej, a występowaniem polimorfizmów rs1049353, rs2023239, rs6454674 oraz rs806381 wykazano istnienie zależności pomiędzy polimorfizmem rs1049353, a całkowitą ilością tkanki tłuszczowej wyrażoną w procentach. W badaniu genotyp homozygoty recesywnej A/A wykazywał zwiększoną ilość procentową zawartości tkanki tłuszczowej, co może świadczyć o predyspozycji genetycznej do wystąpienia otyłości. W przypadku pozostałych genotypów analizowanych polimorfizmów nie wykazano istnienia ich powiązań z ilością tkanki tłuszczowej. Wyniki badań dotyczących

związku pomiędzy badanymi polimorfizmami, a określonym typem dystrybucji tkanki tłuszczowej wykazały powiązanie pomiędzy polimorfizmem rs1049353, a otyłością typu androidalnego u kobiet pomenopauzalnych. W przypadku genotypu homozygoty recesywnej A/A ilość androidalnej tkanki tłuszczowej wyrażonej wartością procentową była większą niż u homozygot dominujących G/G. W zakresie pozostałych genotypów ocenianych polimorfizmów nie wykazano istnienia ich powiązań z ocenianymi parametrami dystrybucji tkanki tłuszczowej w analizowanej grupie

Wnioski:

1. Wykazano istnienie zależności pomiędzy polimorfizmem rs1049353, a całkowitą ilością tkanki tłuszczowej wyrażonej w procentach. W przypadku badania genotyp homozygoty recesywnej A/A wykazano zwiększoną ilość procentową zawartości tkanki tłuszczowej, co można ocenić jako predyspozycję genetyczną do wystąpienia otyłości.
2. W przypadku pozostałych genotypów ocenianych polimorfizmów nie wykazano istnienia ich powiązań z ilością tkanki tłuszczowej oraz wskaźnikiem BMI.
3. Polimorfizm rs1049353 wykazuje związek z dystrybucją tkanki tłuszczowej tj. wielkością depozytu tłuszczu androidalnego. W przypadku genotypu homozygoty recesywnej A/A ilość androidalnej tkanki tłuszczowej wyrażonej wartością procentową była większa niż u homozygot dominujących G/G.
4. W zakresie pozostałych genotypów ocenianych polimorfizmów nie wykazano istnienia ich powiązań z ocenianymi parametrami dystrybucji tkanki tłuszczowej w analizowanej grupie.
5. Wykazane powiązania ilości tkanki tłuszczowej oraz wartości depozytu tłuszczu androidalnego z genotypem homozygotycznym A/A polimorfizmu rs1049353 mogą sugerować jego rolę w etiologii otyłości brzusznej kobiet w okresie klimakterium.