

HOW EFFECTIVE ARE LEPTIN GENE POLYMORPHISMS AND METHYLATION DURING THE COURSE OF MULTIPLE MYELOMA (MM)?

I. SERIN¹, Y. OYACI², M. PEHLIVAN³, I. DEMIR⁴,
B. DEMIR¹, T.A. CINLI¹, O. YOKUS¹, S. PEHLIVAN²

¹ Department of Hematology, Istanbul Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Istanbul, Turkey

² Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Institute of Health Sciences, Istanbul University, Istanbul, Turkey

³ Department of Hematology, Faculty of Medicine, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey

⁴ Department of Internal Medicine Abdulkadir Yuksel State Hospital, Gaziantep, Turkey

E-mail: serinistemi@hotmail.com, yaseminf@hotmail.com,
psacide@hotmail.com, iknur_88@hotmail.com,
karaburcak@hotmail.com, tahiralper@hotmail.com,
drosmayokus@gmail.com, sacide.pehlihan@istanbul.edu.tr

Corresponding Author Istem SERIN: serinistemi@hotmail.com

Leptin is mainly produced from adipose tissue and released into the circulation. Circulating leptin binds to the leptin receptor (LEPR) in the brain, which activates signaling pathways that inhibit feeding and promote calorie expenditure. The leptin receptor (LEPR, also known as Ob-R) gene is located at chromosome 1p31. DNA methylation consists of addition a methyl group at position 5' of the pyrimidine ring of the cytosines upstream of a guanine (dinucleotide CpG) catalyzed by DNA methyltransferases. Methylation of cytosine in CpG sites is an important epigenetic modification way that could suppress the gene expression. This study was conducted to reveal the role of leptin (-2548 G/A, rs7799039) and LEPR (-668 A/G, rs113711) gene polymorphisms in patients diagnosed with multiple myeloma (MM). Patients who were diagnosed with MM and followed-up in our clinic between January 2010 and January 2022 were included in the study. The genotypes of the leptin (-2548 G/A, rs7799039) and LEPR (-668 A/G, rs113711) genes were statistically compared between patients and healthy controls. Additionally, the statistically significant effects of these genotypes on survival were examined. In addition, the methylation status of the patients was compared to the healthy control group, and the effect on survival was evaluated. A total of 300 patients diagnosed with MM and 170 individuals to form a healthy control group were included in this study. In the statistical analysis performed to investigate the effect of leptin and LEPR gene polymorphisms on disease susceptibility, GA

and AA genotypes of the leptin gene were found to be significantly higher in the patient group compared to healthy controls. In the statistical analysis for -31 NT and -51 NT methylation of the leptin gene, -51 NT methylation was found to be significantly higher in healthy controls ($p = 0.002$). In the survival analysis, progression-free survival (PFS) of patients with GG genotype of the LEPR gene was found to be significantly shorter compared to others, there was no effect on the overall survival. In the multivariate analysis, it was revealed that the PFS of patients with GG genotype of the LEPR gene was 2.02 times shorter compared to others (RR: 2.017; CI: 1.191–3.418, $p = 0.009$). MM and leptin polymorphisms have significant features in terms of both disease susceptibility and treatment response.

Key words: Multiple myeloma, leptin, methylation, diagnosis, survival.

НАСКІЛЬКИ ЕФЕКТИВНІ ПОЛІМОРФІЗМИ ГЕНУ ЛЕПТИНУ ТА МЕТИЛЮВАННЯ ПРИ МНОЖИННІЙ МІЄЛОМІ (ММ)?

Лептин здебільшого виробляється в жировій тканині і вивільняється в кровообіг. Циркулюючий лептин зв'язується з рецептором лептину (LEPR) в мозку, що активує сигнальні шляхи, які гальмують прийом їжі та сприяють витратам калорій. Ген рецептора лептину (LEPR, також відомий як Ob-R) знаходиться на хромосомі 1p31. Метилювання ДНК полягає в приєднанні метильної групи в положенні 5' піримідинового кільця цитозинів перед гуаніном (динуклеотид CpG), що каталізується ДНК метилтрансферазами. Метилювання цитозину в ділянках CpG є важливим шляхом епігенетичної модифікації, який може пригнічувати експресію генів. Метою проведення цього дослідження було виявлення ролі поліморфізмів гену лептину (-2548 G/A, rs7799039) і LEPR (-668 A/G, rs113711) у пацієнтів з підтвердженою множинною мієломою (ММ). У дослідженні брали участь пацієнти з діагнозом ММ, які перебували під наглядом у нашій клініці з січня 2010 року по січень 2022 року. Було проведено статистичне порівняння генотипів генів лептину (-2548 G/A, rs7799039) і LEPR (-668 A/G, rs113711) між пацієнтами і здоровою контрольною групою. Крім того, було вивчено статистично значущий вплив цих генотипів на виживання. Статус метилювання пацієнтів також порівняли зі здоровою контрольною групою і оцінили його вплив на виживання. Загалом у дослідження було включено 300 пацієнтів із діагнозом ММ і 170 осіб для здорової контрольної групи. Статистичний аналіз, проведений для вивчення впливу поліморфізмів генів лептину і LEPR на схильність до захворювання, показав, що генотипи GA і AA гену лептину були

значно вищими у групі пацієнтів порівняно зі здоровою групою. Під час статистичного аналізу метилювання -31 NT і -51 NT гену лептину було виявлено, що метилювання -51 NT значно вище у здоровій контрольній групі ($p = 0,002$). Аналіз виживання продемонстрував, що виживання без прогресування захворювання (PFS) пацієнтів із генотипом GG гену *LEPR* було значно коротшим порівняно з іншими, не було жодного впливу на загальне виживання. Багатофакторний аналіз показав, що показник PFS пацієнтів із генотипом GG гену *LEPR* був у 2,2 рази меншим порівняно з іншими (RR: 2,017; CI: 1,191–3,418, $p = 0,009$). Множинна міелома і поліморфізми лептину мають суттєві особливості як із точки зору схильності до захворювання, так і з точки зору реагування на лікування.

Ключові слова: множинна міелома, лептин, метилювання, діагноз, виживання.

REFERENCES

- Adiga U, Banawalikar N, Rai T (2022) Association of Leptin and Leptin receptor Gene polymorphisms with Insulin resistance in pregnant women: A cross-sectional study. *F1000Res* 11:692. <https://doi.org/10.12688/f1000research.122537.2>
- Bains V, Kaur H, Badaruddoza B (2020) Association analysis of polymorphisms in LEP (rs7799039 and rs2167270) and LEPR (rs1137101) gene towards the development of type 2 diabetes in North Indian Punjabi population. *Gene* 754:144846
- Bergstrom DJ, Kotb R, Louzada ML et al (2020) Myeloma Canada Research Network Consensus Guideline Consortium. Consensus Guidelines on the Diagnosis of Multiple Myeloma and Related Disorders: Recommendations of the Myeloma Canada Research Network Consensus Guideline Consortium. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 20:352–367. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2020.01.017>
- Bestor TH (2000) The DNA methyltransferases of mammals. *Hum Mol Genet* 9:2395–2402. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.16.2395>
- Charchour R, Dufour-Rainfray D, Morineau G et al (2020) groupe de travail RIHN Adipokines. Rôles biologiques a multiples facettes de la leptine [Multifaceted biological roles of leptin]. *Ann Biol Clin (Paris)* 78:231–242. <https://doi.org/10.1684/abc.2020.1560>
- Dutta D, Ghosh S, Pandit K et al (2012) Leptin and cancer: Pathogenesis and modulation. *Indian J Endocrinol Metab* 16:596–600. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.105577>
- García-Cardona MC, Huang F, García-Vivas JM et al (2014) DNA methylation of leptin and adiponectin promoters in children is reduced by the combined presence of obesity and insulin resistance. *Int J Obes* 38:1457–1465. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.30>
- Houde AA, Légaré C, Biron S et al (2015) Leptin and adiponectin DNA methylation levels in adipose tissues and blood cells are associated with BMI, waist girth and LDL-cholesterol levels in severely obese men and women. *BMC Med Genet* 16:29. <https://doi.org/10.1186/s12881-015-0174-1>
- Houde AA, Légaré C, Houde FS et al (2014) Cross-tissue comparisons of leptin and adiponectin: DNA methylation profiles. *Adipocyte* 3:132–140. <https://doi.org/10.4161/adip.28308>
- La Cava A, Matarese G (2004) The weight of leptin in immunity. *Nat Rev Immunol* 4:371–379. <https://doi.org/10.1038/nri1350>
- Lin TC, Hsiao M (2021) Leptin and Cancer: Updated Functional Roles in Carcinogenesis, Therapeutic Niches, and Developments. *Int J Mol Sci* 22:2870. <https://doi.org/10.3390/ijms22062870>
- Milagro FI, Campiyn J, García-Díaz DF et al (2009) High fat diet-induced obesity modifies the methylation pattern of leptin promoter in rats. *J Physiol Biochem* 65:1–9. <https://doi.org/10.1007/BF03165964>
- Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S et al (2021) Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12:585887. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.585887>
- Pérez-Pérez A, Guadix P, Maymy J et al (2016) Insulin and Leptin Signaling in Placenta from Gestational Diabetic Subjects. *Horm Metab Res* 48:62–69. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1559722>
- Pham DV, Park PH (2020) Recent insights on modulation of inflammasomes by adipokines: a critical event for the pathogenesis of obesity and metabolism-associated diseases. *Arch Pharm Res* 43:997–1016. <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01274-7>
- Rajkumar SV (2022) Multiple myeloma: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 97:1086–1107. <https://doi.org/10.1002/ajh.26590>
- Ramakrishnan V, Kumar S (2018) PI3K/AKT/mTOR pathway in multiple myeloma: from basic biology to clinical promise. *Leuk Lymphoma* 59:2524–2534. <https://doi.org/10.1080/10428194.2017.1421760>
- Gonzalez RR, Watters A, Xu Y et al (2009) Leptin-signaling inhibition results in efficient anti-tumor activity in estrogen receptor positive or negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 11:R36. <https://doi.org/10.1186/bcr2321>
- Ria R, Melaccio A, Racanelli V et al (2020) Anti-VEGF Drugs in the Treatment of Multiple Myeloma Patients. *J Clin Med* 9:1765. <https://doi.org/10.3390/jcm9061765>
- Sabi EM, Bin Dahman LS, Mohammed AK et al

- (2022) –2548G>A LEP Polymorphism Is Positively Associated with Increased Leptin and Glucose Levels in Obese Saudi Patients Irrespective of Blood Pressure Status. *Medicina (Kaunas)* 58:346. <https://doi.org/10.3390/medicina58030346>
- Sadashiv, Modi A, Khokhar M et al (2021) Leptin DNA Methylation and Its Association with Metabolic Risk Factors in a Northwest Indian Obese Population. *J Obes Metab Syndr* 30:304–311. <https://doi.org/10.7570/jomes20131>
- Sahin DS, Tumer C, Demir C et al (2013) Association with leptin gene C.–2548 G>A polymorphism, serum leptin levels, and body mass index in Turkish obese patients. *Cell Biochem Biophys* 65:243–247. <https://doi.org/10.1007/s12013-012-9427-1>
- Stolzenbach F, Valdivia S, Ojeda-Provoste P et al (2020) DNA methylation changes in genes coding for leptin and insulin receptors during metabolic-altered pregnancies. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1866:165465. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.05.001>
- Vaskú JA, Vaskú A, Dostálová Z et al (2006) Association of leptin genetic polymorphism –2548 G/A with gestational diabetes mellitus. *Genes Nutr* 1:117–123. <https://doi.org/10.1007/BF02829953>
- Wryblewski A, Strycharz J, Świdarska E et al (2019) Molecular Insight into the Interaction between Epigenetics and Leptin in Metabolic Disorders. *Nutrients* 11:1872. <https://doi.org/10.3390/nu11081872>
- Yu W, Cao DD, Li QB et al (2016) Adipocytes secreted leptin is a pro-tumor factor for survival of multiple myeloma under chemotherapy. *Oncotarget* 7:86075–86086. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13342>

Received May 21, 2023

Received July 20, 2023

Accepted July 18, 2024