

# ANALÝZA GÉNU TCF7L2 V SPOJITOSTI S OBEZITOU AKO KARDIOMETABOLICKÝM RIZIKOVÝM FAKTORM V RÓMSKEJ A MAJORITNEJ POPULÁCII VÝCHODNÉHO SLOVENSKA

## Analysis of the TCF7L2 gene in relation to obesity as a cardiometabolic risk factor in the Roma and majority population of eastern Slovakia

Soňa Mačková, Ivana Klobušovská, Jarmila Bernasovská, Iveta Boroňová, Dana Dojčáková, Matúš Mathia, Jana Gaľová, Eva Petrejčíková, Miriama Šlebodová

Katedra biológie, Fakulta humanitných a prírodných vied,  
Prešovská univerzita v Prešove, Prešov, Slovensko

### Abstract

Obesity is a multifactorial disease that results from the complex interplay between genes and the environment. The aim of the research was to analyse polymorphisms (rs7903146, rs12255372 and rs1196205) of the *TCF7L2* gene in the Roma and majority populations of eastern Slovakia. The group of the majority population consisted of 263 individuals and the group of the Roma population 132 individuals. Real-time PCR was used to genotyping the analysed samples. The results of the genetic analysis confirmed the association of the rs7903146 polymorphism of the *TCF7L2* gene with obesity in the majority population. In the majority population, we found significant differences between different genotypes of the rs7903146 polymorphism in body weight ( $p = 0.004$ ) and in the BMI index ( $p = 0.035$ ). The association of *TCF7L2* gene polymorphisms with obesity in other polymorphisms was not statistically significant in the groups we studied. However, the results of the distribution of genotypic and allele frequencies indicated a significant ethnic heterogeneity in the frequency of the risk allele (T) of the rs7903146 polymorphism as well as the rs12255372 polymorphism of the *TCF7L2* gene. The frequencies of both risk alleles in the Roma population showed significant deviations from those reported for European populations.

**Key words:** obesity, polymorphism, *TCF7L2* gene, association, population

### Úvod

Obezita je progresívne ochorenie charakterizované akumuláciou tuku, ktoré napĺňa všetky kritéria chronického ochorenia. Má svoju etiológiu, príznaky a symptómy, vedie k štruktúrnym a funkčným zmenám, ktoré kulminujú mnohopočetnými orgánovo-špecifickými patologickými komplikáciami. Z hľadiska morbidity a mortality determinantom rizika nie je len miera zastúpenia tuku v tele, ale hlavne lokalizácia, kde k jeho kumulácii dochádza (Kokaisl, 2007), pričom výraznejší vplyv na rozvoj závažných zdravotných komplikácií má viscerálna obezita

(Tsigos et al., 2008; Ades et al., 2008). Obezita je významným kardiometabolickým rizikovým faktorom, kedy v dôsledku zvýšeného podielu tukového tkaniva dochádza ku vzniku metabolických abnormalít, ako aj hemodynamických zmien, ktoré môžu viesť k dysfunkcii myokardu a v konečnom dôsledku zapríčiniť srdcové zlyhanie až smrť (Lavie et al., 2009; Alpert et al., 2014). Obezita tak predstavuje jednu z hlavných príčin kardiovaskulárnej morbidity a mortality. Okrem toho s narastaním hmotnosti sa paralelne zvyšuje riziko rozvoja poruchy tolerancie glukózy až po diabetes mellitus 2. typu (Mokdad et al., 2001).

Obezita je multifaktoriálne podmienené ochorenie a celosvetovo sa radí medzi najzávažnejšie zdravotné problémy dnešnej doby. Z genetického hľadiska je ochorením heterogénnym s komplexným typom dedičnosti, kde vplyv jednotlivých génov k fenotypovej variabilite je malý, ale stály a môže byť modulovaný vplyvom iných faktorov (Bendlová et al., 2014). Diagnostikovať jednoznačnú príčinu je s ohľadom na komplexnosť tohto ochorenia a individuálnu variabilitu vplyvu jednotlivých faktorov mnohokrát pomerne náročné. Výskumy, ktoré hľadajú spojenie medzi obezitou a pridruženými ochoreniami, ktoré vznikajú v jej dôsledku, zacielené na odhalenie vplyvu genetickej zložky, majú značný význam. Ako uvádza štúdia Yan et al. (2008) polymorfizmy génu *TCF7L2* asociujú s rozvojom diabetu 2. typu v závislosti od stupňa obezity. Gén *TCF7L2* (transkripčný faktor 7 podobný faktoru 2) je lokalizovaný na 10 chromozóme v pozícii 10q25.3, obsahuje 17 exónov (Pang et al., 2013) a kóduje proteín zapojený do regulácie bunkového cyklu, proliferácie a diferenciácie buniek a zohráva dôležitú úlohu aj ako transkripčný faktor vo WNT signálnej dráhe (Yi et al., 2008).

### Cieľ

Cieľom výskumu bola analýza rs7903146, rs12255372 a rs1196205 polymorfizmov génu *TCF7L2* v rómskej a majoritnej populácii východného Slovenska. Naším cieľom bolo stanoviť a porovnať frekvencie genotypov a alel polymorfizmov (rs7903146, rs12255372, rs1196205) génu *TCF7L2* ako aj analyzovať možnú asociáciu medzi jednotlivými genotypmi vybraných polymorfizmov s antropometrickými parametrami hodnotiacimi obezitu v jednotlivých nami sledovaných súboroch.

### Materiál a metodika

Analýzovaný súbor tvorilo 263 (96 mužov a 167 žien) jedincov majoritnej populácie a 132 (66 mužov a 66 žien) jedincov rómskej populácie východného Slovenska. Pre asociačnú analýzu boli vybrané antropometrické parametre a indexy, ktoré majú priamy vzťah k obezite a telesnému zloženiu. U každého probanda bolo štandardnými metódami vykonané meranie 4 telesných parametrov: telesná výška (cm), telesná hmotnosť (kg), obvod pása (cm), obvod bokov (cm). Z nameraných údajov boli následne vypočítané indexy: BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) – index telesnej hmotnosti, WHR – index pomeru obvodu pása k obvodu bokov, WHtR index – pomer obvodu pása k telesnej výške. Štúdia bola schválená etickou komisiou, všetci účastníci zaradení do tejto štúdie boli informovaní o problematike výskumu a poskytli písomný informovaný súhlas o použití vzorky biologického materiálu na účely molekulárno-genetickej analýzy. Vzorky boli extrahované z bukalnej sliznice a izolácia genómovej DNA bola vykonaná podľa protokolu komerčného extrakčného kitu (Promega, Madison, USA). Pre genetickú analýzu sme vybrali tri polymorfizmy génu *TCF7L2* konkrétne rs7903146; rs12255372; 1196205. Genotypovanie vybraných polymorfizmov bolo realizované s použitím TaqMan SNP Genotyping assay od firmy Applied Biosystems (Foster City, CA, USA) na prístroji ABI 7500 Fast Real-Time PCR. Na štatistickú analýzu dát bol použitý štatistický program IBM SPSS verzia 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) pre Windows. Pre účely opisnej štatistiky

boli kvalitatívne premenné vyjadrené ako absolútne čísla a frekvencie a kvantitatívne premenné boli vyjadrené ako priemer a štandardná odchýlka. Rozdiely medzi skupinami pre kategorické premenné boli testované pomocou  $\chi^2$ -kvadrátového testu a pri kontinuálnych premenných bol použitý Studentov t-test a ANOVA. Asociačnú analýzu sme vykonali logistickou regresiou. Pre všetky štatistické testy slúžila ako hladina významnosti hodnota  $p \leq 0,05$ .

## Výsledky

Priemerný vek probandov rómskeho súboru bol 43,37 ( $\pm 13,45$ ) rokov a majoritného súboru 44,89 ( $\pm 17,01$ ) rokov. Pri analýze údajov priemerných hodnôt vybraných antropometrických parametrov u jedincov majoritnej a rómskej populácie sme v ukazovateľoch obezity ako telesná hmotnosť, obvod pásu, BMI, WHR i WHtR indexu zaznamenali štatisticky významne vyššie hodnoty u rómskej populácie v porovnaní s majoritnou populáciou (Tabuľka 1).

**Tabuľka 1.** Deskriptívna charakteristika analyzovaného súboru majoritnej a rómskej populácie

Parameter	majoritná populácia (n = 263)	rómska populácia (n = 132)	p
	x $\pm$ SD	x $\pm$ SD	
Vek (roky)	44,89 $\pm$ 17,01	43,37 $\pm$ 13,45	0,373
Telesná výška (cm)	169,32 $\pm$ 9,44	164,32 $\pm$ 9,35	< 0,001
Telesná hmotnosť (kg)	75,70 $\pm$ 15,77	79,75 $\pm$ 18,46	0,024
Obvod pásu (cm)	91,44 $\pm$ 14,57	97,16 $\pm$ 16,23	< 0,001
Obvod bokov (cm)	104,51 $\pm$ 10,77	106,39 $\pm$ 16,61	0,123
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,37 $\pm$ 4,86	29,53 $\pm$ 6,52	< 0,001
WHR	0,87 $\pm$ 0,09	0,92 $\pm$ 0,10	< 0,001
WHtR	0,55 $\pm$ 0,10	0,60 $\pm$ 0,10	< 0,001

Poznámka: n – počet jedincov, x – priemerná hodnota, SD (standard deviation) – štandardná odchýlka, BMI – index telesnej hmotnosti, WHR – pomer obvodu pásu k obvodu bokov (cm), WHtR – pomer obvodu pásu k telesnej výške (cm)

**Tabuľka 2.** Genotypové a alelové frekvencie vybraných SNP génu *TCF7L2* u majoritnej a rómskej populácie

		majoritná populácia (n = 263)	rómska populácia (n = 132)
		rs7903146	Genotyp CC
	Genotyp CT	98 (37,26 %)	34 (25,76 %)
	Genotyp TT	26 (9,89 %)	0 (0,00 %)
	MAF (T)	0,29	0,13
	Porovnanie alelových frekvencií	$\chi^2 = 24,06$ ; df = 1; p < 0,001	
rs12255372	Genotyp GG	144 (54,75 %)	99 (71,74 %)
	Genotyp GT	96 (36,50 %)	39 (28,26 %)
	Genotyp TT	23 (8,75 %)	0 (0,00 %)
	MAF (T)	0,27	0,14
	Porovnanie alelových frekvencií	$\chi^2 = 17,15$ ; df = 1; p < 0,001	
rs11196205	Genotyp GG	78 (29,66 %)	49 (37,12 %)
	Genotyp GC	124 (47,15 %)	72 (54,55 %)
	Genotyp CC	61 (23,19 %)	11 (8,33 %)
	MAF (C)	0,47	0,36
	Porovnanie alelových frekvencií	$\chi^2 = 8,93$ ; df = 1; p = 0,003	

Poznámka: n – celkový počet, HWE – Hardy-Weinbergová rovnováha, MAF – frekvencia zriedkavejšej alely,  $\chi^2$  – chí-kvadrát test

Alelové a genotypové frekvencie polymorfizmov rs7903146, rs12255372 a rs11196205 génu *TCF7L2* u jedincov majoritnej a rómskej populácie sú zobrazené v tabuľke 2. V skupine majoritnej populácie (n = 263) pri jednotlivých detegovaných polymorfizmoch (rs7903146, rs12255372, rs11196205) génu *TCF7L2* sme v rámci rs7903146 polymorfizmu zaznamenali 26 (9,89 %) homozygotov pre rizikovú alelu (T), v rs12255372 polymorfizme 23 (8,75 %) nositeľov rizikovej alely (T) v homozygotnom stave a opätovne najviac homozygotov pre rizikovú alelu (C) v počte 61 (23,19 %) jedincov majoritnej populácie bolo detegovaných v polymorfizme rs11196205 génu *TCF7L2* (Tabuľka 2). U jedincov rómskej populácie (n = 132) sme pri polymorfizme rs7903146 nenašli žiadneho jedinca homozygotného pre rizikovú alelu T, 34 (25,76 %) bolo heterozygotných (genotyp CT) a 98 (74,24 %) jedincov disponovalo homozygotným genotypom pre protektívnu alelu C. Z porovnania alelových frekvencií sme zistili, že frekvencia zriedkavejšej

rizikovej alely T bola signifikantne vyššia v skupine majoritnej populácie v porovnaní s rómskou populáciou (p < 0,001). Podobné výsledky boli zaznamenané v rómskej populácii v rámci analýzy alelových a genotypových frekvencií i v polymorfizme rs12255372 (Tabuľka 2). Taktiež nebol nájdený žiaden nositeľ rizikovej alely T v homozygotnom stave a frekvencia rizikovej alely bola signifikantne vyššia v skupine majoritnej populácie v porovnaní s rómskou populáciou (p < 0,001). Pri polymorfizme rs11196205 génu *TCF7L2* bolo u Rómov detegovaných 11 (8,33 %) homozygotných nositeľov rizikovej C alely, 72 (54,55 %) heterozygotných jedincov (genotyp GC) a 49 (37,12 %) jedincov bez rizikovej alely (GG homozygoti pre protektívnu alelu). Frekvencia mutovanej alely C bola podobne ako pri predošlých dvoch analyzovaných polymorfizmoch (rs7903146, rs12255372) génu *TCF7L2* signifikantne vyššia v skupine majoritnej populácie v porovnaní s rómskou populáciou (p = 0,003).

Tabuľka 3. Porovnanie parametrov majoritného súboru ( $n = 263$ ) medzi genotypmi vybraných polymorfizmov génu *TCF7L2*

SNP	Alely M/m	Parameter*	M/M	M/m	m/m	p
rs7903146	C/T	Vek (roky)	45,56 ± 16,41	43,70 ± 18,11	45,73 ± 16,26	0,687
		TV (cm)	169,20 ± 9,54	168,69 ± 9,61	172,31 ± 7,95	0,218
		TH (kg)	74,67 ± 15,01	74,61 ± 15,97	85,34 ± 15,95	0,004
		OP (cm)	90,56 ± 14,56	91,00 ± 14,15	97,81 ± 15,20	0,061
		OB (cm)	103,45 ± 9,97	104,98 ± 11,00	108,35 ± 13,01	0,089
		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,06 ± 4,68	26,17 ± 5,04	28,70 ± 4,67	0,035
		WHR	0,87 ± 0,98	0,86 ± 0,08	0,89 ± 0,07	0,339
		WHtR	0,54 ± 0,10	0,58 ± 0,09	0,58 ± 0,08	0,121
rs12255372	G/T	Vek (roky)	44,99 ± 16,47	44,82 ± 18,06	44,52 ± 16,61	0,992
		TV (cm)	169,38 ± 9,56	168,78 ± 9,60	171,22 ± 8,17	0,536
		TH (kg)	75,05 ± 14,96	74,80 ± 15,98	83,51 ± 18,25	0,044
		OP (cm)	91,00 ± 14,37	90,77 ± 14,28	97,00 ± 16,58	0,159
		OB (cm)	103,67 ± 9,96	104,91 ± 10,9	108,04 ± 13,97	0,176
		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,14 ± 4,61	26,22 ± 5,08	28,37 ± 5,22	0,115
		WHR	0,88 ± 0,10	0,86 ± 0,09	0,89 ± 0,08	0,447
		WHtR	0,54 ± 0,10	0,55 ± 0,10	0,58 ± 0,10	0,208
rs11196205	G/C	Vek (roky)	46,22 ± 16,53	46,31 ± 17,45	40,28 ± 16,15	0,054
		TV (cm)	169,67 ± 10,03	168,67 ± 9,38	170,18 ± 8,83	0,551
		TH (kg)	74,67 ± 14,69	77,20 ± 16,09	73,96 ± 16,43	0,334
		OP (cm)	90,67 ± 13,85	93,33 ± 14,82	88,59 ± 14,61	0,098
		OB (cm)	103,15 ± 10,45	106,0 ± 10,82	103,11 ± 10,81	0,092
		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,94 ± 4,56	27,08 ± 4,97	25,46 ± 4,86	0,066
		WHR	0,88 ± 0,09	0,88 ± 0,09	0,85 ± 0,09	0,162
		WHtR	0,54 ± 0,11	0,56 ± 0,10	0,53 ± 0,09	0,094

Poznámka: \* parametre sú uvedené ako priemerné hodnoty ± SD (standard deviation) – štandardná odchýlka, M/m – majoritná/minoritná alela sledovaného polymorfizmu, TV – telesná výška, TH – telesná hmotnosť, OP – obvod pásu, OB – obvod bokov, BMI – index telesnej hmotnosti, WHR – pomer obvodu pásu k obvodu bokov (cm), WHtR – pomer obvodu pásu k telesnej výške (cm)

Charakteristika súboru majoritnej populácie podľa genotypov vybraných polymorfizmov rs7903146, rs12255372, rs11196205 génu *TCF7L2* je popísaná v tabuľke 3. Signifikantné rozdiely medzi jednotlivými genotypmi polymorfizmu rs7903146 boli pozorované v telesnej hmotnosti a v indexe BMI. Priemerná hodnota telesnej hmotnosti u jedincov homozygotného genotypu pre rizikóvu alelu (T) bola 85,34 (± 15,95) kg, čo v priemere predstavovalo až o 10,67 (± 0,94) kg vyššiu telesnú hmotnosť ako u jedincov s homozygotným genotypom CC. Aj v rámci polymorfizmu rs12255372 boli zaznamenané štatisticky významné rozdiely medzi genotypmi a priemernými hodnotami telesnej hmotnosti (Tabuľka 3). Nositelia rizikovej alely (T) mali v priemere o 8,46 (± 3,29) kg vyššiu telesnú hmotnosť v porovnaní s homozygotmi pre protektívnu alelu G. Na základe analýzy výsledkov sme zistili, že prítomnosť rizikovej alely (T) polymorfizmu rs7903146

i polymorfizmu rs12255372 génu *TCF7L2* úzko súvisí s vyššou telesnou hmotnosťou v tomto súbore. Pri štatistickom spracovaní údajov v prípade polymorfizmu rs11196205 u jedincov majoritnej populácie sme ani u jedného sledovaného parametra nezaznamenali žiadne signifikantné rozdiely pri porovnávaní ich priemerných hodnôt medzi jednotlivými genotypmi.

Charakteristika súboru rómskej populácie podľa genotypov vybraných polymorfizmov (rs7903146, rs12255372, rs11196205) génu *TCF7L2* je uvedená v tabuľke 4. V celom súbore jedincov rómskej populácie v polymorfizmoch rs7903146 a rs12255372 nebol detegovaný homozygotný genotyp pre rizikóvu alelu (T). Uvedená skutočnosť poukazuje na výraznú etnickú heterogenitu frekvencie rizikovej alely. Medzi jednotlivými genotypmi uvedených polymorfizmov génu *TCF7L2* neboli v nami sledovaných parametroch pozorované žiadne signifikantné rozdiely.

Tabuľka 4. Porovnanie parametrov rómskej populácie ( $n = 132$ ) medzi genotypmi vybraných polymorfizmov génu *TCF7L2*

SNP	Alely M/m	Parameter*	M/M	M/m	m/m	p
rs7903146	C/T	Vek (roky)	44,48 ± 13,96	40,18 ± 11,46	-	0,108
		TV (cm)	164,08 ± 9,60	165,00 ± 8,74	-	0,624
		TH (kg)	80,97 ± 18,74	76,24 ± 17,39	-	0,199
		OP (cm)	98,09 ± 15,95	94,47 ± 16,98	-	0,264
		OB (cm)	107,22 ± 13,10	103,97 ± 10,86	-	0,196
		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30,14 ± 6,88	27,80 ± 5,06	-	0,072
		WHR	0,92 ± 0,98	0,90 ± 0,11	-	0,418
		WHtR	0,60 ± 0,11	0,58 ± 0,10	-	0,215

rs12255372	G/T	Vek (roky)	44,33 ± 13,96	40,48 ± 11,49	-	0,155
		TV (cm)	164,04 ± 9,56	165,15 ± 8,83	-	0,557
		TH (kg)	80,71 ± 18,83	76,88 ± 17,25	-	0,304
		OP (cm)	97,77 ± 16,19	95,33 ± 16,47	-	0,458
		OB (cm)	107,09 ± 13,11	104,27 ± 10,89	-	0,268
		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30,05 ± 6,90	27,99 ± 5,02	-	0,118
		WHR	0,92 ± 0,10	0,91 ± 0,11	-	0,694
		WHtR	0,60 ± 0,11	0,58 ± 0,10	-	0,383
rs11196205	G/C	Vek (roky)	46,71 ± 13,12	42,03 ± 13,37	37,27 ± 12,95	0,048
		TV (cm)	162,51 ± 9,83	164,86 ± 8,71	168,82 ± 10,24	0,099
		TH (kg)	79,74 ± 18,83	79,01 ± 18,14	84,64 ± 19,88	0,646
		OP (cm)	97,53 ± 15,50	96,32 ± 16,47	101,00 ± 18,23	0,662
		OB (cm)	106,96 ± 14,48	106,0 ± 11,63	106,45 ± 10,69	0,918
		BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30,23 ± 7,10	29,07 ± 6,28	29,45 ± 5,55	0,635
		WHR	0,60 ± 0,10	0,59 ± 0,10	0,60 ± 0,11	0,784
		WHtR	0,54 ± 0,11	0,56 ± 0,10	0,53 ± 0,09	0,724

**Poznámka:** \* parametre sú uvedené ako priemerné hodnoty ± SD (standard deviation) – štandardná odchýlka, M/m – majoritná/minoritná alela sledovaného polymorfizmu, TV – telesná výška, TH – telesná hmotnosť, OP – obvod pásu, OB – obvod bokov, BMI – index telesnej hmotnosti, WHR – pomer obvodu pásu k obvodu bokov (cm), WHtR – pomer obvodu pásu k telesnej výške (cm)

Pre alelovú asociačnú štúdiu všetkých nami analyzovaných polymorfizmov sme sledované súbory majoritnej a rómskej populácie rozdelili na základe parametrov priamo charakterizujúcich obezitu: podľa BMI hodnoty klasifikujúcej obezitu (BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), podľa rizikových hodnôt obvodu pásu ( $\geq 80$  ženy,  $\geq 94$  muži cm) a hodnôt WHR indexu ( $\geq 0,85$  ženy,  $\geq 1,0$  muži) klasifikujúcich abdominálnu obezitu na skupiny rizikové (nad uvedené hodnoty daných parametrov) a kontrolné (pod uvedené hodnoty). V rámci asociačnej analýzy sledovaných polymorfizmov (rs7903146, rs12255372, rs11196205) génu *TCF7L2* v majoritnej skupine stratifikovanej na základe vybraných antropometrických parametrov obezity bola signifikantne významná asociácia potvrdená len pri polymorfizme rs7903146 (dáta nie sú uvedené). V súbore majoritnej populácie bola riziková alela (T) polymorfizmu rs7903146 génu *TCF7L2* významne asociovaná s BMI a obvodom pásu. Výsledky alelovej asociačnej štúdie odhalili, že alela T predstavuje v majoritnej populácii u jej nositeľov 1,586-krát vyššie riziko pre vyšší index BMI (CI (confidence interval) 1,031 – 2,440;  $p = 0,035$ ) a 1,596-krát vyššie riziko pre vyššie hodnoty obvodu pásu (CI 1,056 – 2,411;  $p = 0,025$ ) v porovnaní s jedincami, ktorí ňou nedisponujú. V rámci rómskej populácie sa nám pri analýze jednotlivých parametrov obezity nepodarilo ani u jedného nami sledovaného polymorfizmu preukázať signifikantné zvýšenie rizika u nositeľov rizikových alel.

## Diskusia

V poslednom období sa hovorí o tzv. pandémie diabetu, ktorá vychádza z faktu, že riziko rozvoja poruchy tolerancie glukózy až po diabetes mellitus 2. typu sa zvyšuje paralelne s nárastom nadhmotnosti a obezity. Na základe uvedeného faktu sme sa preto rozhodli pre testovanie možnej asociácie medzi obezitou a polymorfizmami rs7903146, rs12255372, rs11196205 génu *TCF7L2*, ktorému sa v súčasnosti pripisuje význam vo vzťahu k diabetu 2. typu (Pang et al., 2013; Grant et al., 2009; Yan et al., 2008; Helgason et al., 2007). Častý spoločný výskyt obezity a diabetu 2. typu vychádza zo skutočnosti, že obe klinické jednotky majú pravdepodobne spoločnú patogenézu. Riziko rozvoja diabetu 2. typu je spojené hlavne so zmožením viscerálneho tuku a predpokladá poruchu v metabolizme tukového tkaniva. Nami sledovaný gén *TCF7L2* z hľadiska patogenézy diabetu 2. typu patrí do skupiny génov ovplyvňujúcich inzulínovú sekréciu. Zmena v géne *TCF7L2* totiž môže narušiť expresiu

glukagónu podobnému peptidu 1 (GLP – 1) v eneteroendokrinných L – bunkách. GLP – 1 je proteín patriaci medzi tzv. inkretíny a zohráva úlohu v patogenéze diabetu 2. typu. Je produkovaný črevnými bunkami ako odpoveď na vstup glukózy, čo spôsobuje stimuláciu sekrécie inzulínu závislú na glukóze (Groves et al., 2006). Výsledky štúdie Yana et al. (2008), Cauchiho et al. (2008) či Helgasona et al. (2007) poukazujú na fakt, že asociácia medzi rizikovou alelou (T) polymorfizmu rs7903146 génu *TCF7L2* a rizikom diabetu 2. typu závisí od stupňa obezity. Al-Daghri et al. (2014) vo svojej štúdii, ktorá sa zaoberala štúdiom 36 polymorfizmov asociovaných s diabetom 2. typu v súvislosti s jednotlivými ukazovateľmi obezity, sledovali významnú asociáciu polymorfizmu rs7903146 génu *TCF7L2* s vyššími hodnotami BMI i s obvodom pásu. Výsledky našej analýzy poukázali na mierny nárast hodnôt BMI s každou pribúdajúcou rizikovou alelou (T) polymorfizmu rs7903146 u jedincov majoritnej populácie. Signifikantné rozdiely medzi jednotlivými genotypmi boli v indexe BMI zaznamenané len v majoritnej populácii ( $p = 0,035$ ). Pri analýze ďalších dvoch sledovaných polymorfizmov (rs12255372, rs11196205) génu *TCF7L2* sme nezaznamenali signifikantnú asociáciu s vyšším rizikom rozvoja obezity ani v jednej zo sledovaných skupín. Výsledky Duana et al. (2007), ktorí analyzovali polymorfizmus rs12255372, či Saleho et al. (2007) sledujúcich polymorfizmus rs11196205 potvrdili asociáciu diabetu 2. typu s rizikovými alelami uvedených polymorfizmov. Avšak podobne ako v našej štúdii tak i v uvedených asociačných štúdiách nebol potvrdený vplyv rizikových alel polymorfizmov rs12255372 (T), rs11196205 (C) na rozvoj obezity. Metaanalýza Tonga et al. (2009) i štúdia Cauchi et al. (2008) poukázala na výraznú etnickú heterogenitu vo frekvencii rizikovej alely (T) polymorfizmu rs7903146 génu *TCF7L2*. Najvyššia frekvencia rizikovej alely bola sledovaná v kaukazoidnej populácii (MAF = 0,30) a najnižšia vo východoázijskej populácii (MAF = 0,03). V rámci stredo európskych populácií však bolo vykonaných len málo replikačných štúdií. Nami prezentované výsledky sú teda jednými z pilotných, ktoré informujú o genotypových a alelových frekvenciách sledovaných polymorfizmov génu *TCF7L2* jednak v majoritnej populácii ako aj v rómskej populácii Slovenska. Frekvencia rizikovej alely (T) pre rs7903146 génu *TCF7L2* bola 0,29 v súbore majoritnej populácie a je porovnateľná s odhadmi vypracovanými na základe metaanalýzy v európskej populácii (MAF = 0,31) (Ensembl 2020a). Frekvencia rizikovej alely (T) rs7903146 v súbore rómskych jedincov bola 0,13.

Zistená frekvencia bola signifikantne nižšia od frekvencie v majoritnej populácii (MAF = 0,29;  $p < 0,001$ ) a nespádala ani do európskej škály (MAF = 0,18 – 0,30). Vzhľadom na severoindický pôvod Rómov nami zistené výsledky rizikovej alely (MAF = 0,13) sú značne odlišné aj od tých, ktoré sa uvádzajú pre populáciu indickú (MAF = 0,27 – 0,34). V štúdií Chandaka et al. (2006), ktorí sledovali populáciu indických jedincov udávajú frekvenciu rizikovej alely (T) 0,29. Bodhini et al. (2007) i Humphries et al. (2006) taktiež uvádzajú frekvencie rizikovej alely T rs7903146 (0,28 resp. 0,27) patriacu do indickej škály. Pravdepodobnú príčinu rozdielnosti frekvencie rizikovej alely v nami sledovanej populácii Rómov, možno vysvetliť dejmi v genetyke izolovaných populáciách. Tieto javy môžu spôsobiť zníženie frekvencie minoritnej alely pod hodnotu pôvodnej populácie. Naše zistenia odporúčame overiť replikačnými štúdiami doplnenými o väčší počet probandov, na základe ktorých bude možné unikátnosť frekvencie rizikovej alely (T) u slovenských Rómov potvrdiť, alebo naopak vyvrátiť. Podobné výsledky ako boli zaznamenané v nami sledovanej skupine rómskej populácie pri analýze alelových a genotypových frekvencií polymorfizmu rs7903146 boli zaznamenané i pri polymorfizme rs12255372 génu *TCF7L2*. Frekvencia rizikovej alely T bola signifikantne vyššia v skupine majoritnej populácie (MAF = 0,27) v porovnaní s rómskou populáciou (MAF = 0,14) ( $p < 0,001$ ). Zistená frekvencia rizikovej alely v rómskej populácii bola nižšia aj oproti frekvencii zaznamenatej v Indii (MAF = 0,24) (Bodhini et al., 2007). U tretieho nami sledovaného polymorfizmu rs11196205 génu *TCF7L2* boli podobne ako u predošlých dvoch polymorfizmov pozorované výrazné etnické rozdiely vo frekvencii rizikovej alely. Frekvencia rizikovej alely (C) bola 0,47 v majoritnej populácii, čo súhlasí s priemernou hodnotou frekvencie v európskej kaukazoidnej populácii (0,47) (Ensembl 2020b). Frekvencia rizikovej alely v nami sledovanej rómskej populácii bola 0,36, čo je síce mimo európskeho rozsahu, ale je podobná frekvencii zistenej v indickej populácii (MAF = 0,35; Jyothi et al., 2013). Viaceré štúdie zaoberajúce sa pôvodom Rómov uvádzajú, že pochádzajú zo severných a západných oblastí Indie (Gresham et al., 2001; Mastana & Papiha, 1992). V literatúre doposiaľ neboli popísané údaje o frekvencii rizikových alel polymorfizmov (rs7903146, rs12255372 a rs11196205) génu *TCF7L2* v rómskej populácii. Nami zistené frekvencie sú v Európe unikátne a sú dôkazom veľmi špecifického genofondu rómskeho etnika. Údaje je však vhodné overiť na väčšej vzorke tejto populácie a porovnať s frekvenciami u Rómov v iných krajinách.

## Záver

Obezita predstavuje závažný zdravotný problém a značná časť obéznych ľudí zomiera na ochorenia spôsobené kardiometabolickými komplikáciami zo zvýšenej hmotnosti, preto poznanie genetického pozadia obezity je veľmi žiadúce. Identifikácia genetických determinant obezity môže napomôcť v predikcii ochorenia a zlepšení preventívnej stratégie.

## Podakovanie

Táto publikácia je výsledkom implementácie projektu APVV 15-0556, VEGA č. 1/0461/19 a APVV-0644-12.

## Súhrn

Zvýšená incidencia závažných komorbidít u obéznych jedincov, socioekonomické súvislosti, znížená kvalita života a v neposlednom rade tiež zvýšená mortalita obéznej populácie radí obezitu medzi najzávažnejšie zdravotné problémy civilizovanej spoločnosti celého sveta. Obezita je ochorenie multifaktórného pôvodu. Podiel genetických faktorov na vzniku obezity je však rovnako vysoký a uplatňuje sa na rôznych úrovniach regulačných a metabolických procesov. Cieľom tejto štúdie

bolo na základe vybraných antropometrických parametrov analyzovať asociáciu polymorfizmov (rs7903146, rs12255372 a rs11196205) génu *TCF7L2* s vybranými obezitou charakterizujúcimi ukazovateľmi v majoritnej a rómskej populácii východného Slovenska. Na základe uvedeného faktu sme testovali možnú asociáciu medzi obezitou a polymorfizmami rs7903146, rs12255372, rs11196205 génu *TCF7L2*. Zistili sme signifikantné rozdiely v priemerných hodnotách telesnej hmotnosti a BMI indexu medzi genotypmi polymorfizmu rs7903146 v majoritnej populácii. Výsledky alelovej asociácie štúdie odhalili, že alela T tohto polymorfizmu predstavuje v majoritnej populácii u jej nositeľov 1,586-krát vyššie riziko pre vyšší index BMI (CI 1,031 – 2,440;  $p = 0,035$ ) a 1,596-krát vyššie riziko pre vyššie hodnoty obvodu pásu (CI 1,056 – 2,411;  $p = 0,025$ ) v porovnaní s jedincami, ktorí ňou nedisponujú. V rámci rómskej populácie sa nám pri analýze ani u jedného nami sledovaného polymorfizmu nepodarilo preukázať signifikantné zvýšenie rizika obezity u nositeľov rizikových alel. Výsledky distribúcie genotypových a alelových frekvencií, ale poukázali na výraznú etnickú heterogenitu vo frekvencii rizikovej alely (T) polymorfizmu rs7903146 i polymorfizmu rs12255372 génu *TCF7L2*. Frekvencie oboch rizikových alel v majoritnej populácii spadali do európskej škály, no v rómskej populácii boli preukázané značné odchýlky jednak od európskej škály a navyše boli i nižšie oproti frekvenciám zaznamenaných v Indii. Nami zistené frekvencie boli teda v Európe unikátne a preukázali špecifickosť genofondu rómskeho etnika. Údaje by bolo vhodné overiť na väčšej vzorke a zistiť frekvencie aj u Rómov v iných krajinách.

**Kľúčové slová:** obezita, polymorfizmus, gén *TCF7L2*, asociácia, populácia

## Literatúra

- Ades, P.A., Savage, P.D., Toth, M.J., Schneider, D.J., Audelin, M.C., Bunn, J.Y., & Ludlow, M. (2008). The influence of obesity and consequent insulinresistance on coronary risk factors in medically treated patients with coronary disease. *Int J Obes (Lond)*, 32(6), 967–974.
- Al-Daghri, N.M., Alkharfy, K.M., Al-Attas, O.S., Krishnaswamy, S., Mohammed, A.K., Albagha, O.M., ...Alokail, M.S. (2014). Association between type 2 diabetes mellitus-related SNP variants and obesity traits in a Saudi population. *Molecular biology reports*, 41(3), 1731–1740.
- Alpert, M. A., Lavie, C. J., Agrawal, H., Aggarva, K. B., & Kumar, S. A. (2014). Obesity and heart failure: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestation, and management. *Transl. Res.*, 164(4), 345–356.
- Bendlová, B., Lukášová, P., Vaňková, M., Vejražková, D., Bradnová, O., Včelák, J., ...Hainer, V. (2014). Genetické pozadí běžných forem obezity – od studií identických dvojčat po studium kandidátních genů obezity. *Časopis lékařů českých*, 153, 193–199.
- Bodhini, D., Radha, V., Dhar, M., Narayani, N., & Mohan, V. T. (2007). The rs12255372(G/T) and rs7903146(C/T) polymorphisms of the *TCF7L2* gene are associated with type 2 diabetes mellitus in Asian Indians. *Metabolism*, 56(9), 1174–1178.
- Cauchi, S., Nead, K.T., Choquet, H., Horber, F., Potoczna, N., Balkau, B., ...Meyre, D. (2008). The genetic susceptibility to type 2 diabetes may be modulated by obesity status: implications for association studies. *BMC medical genetics*, 9, 45.
- Duan, Q.L., Dube, M.P., Frasure-Smith, N., Barhdadi, A., Lesperance, F., Theroux, P., ...McCaffery, J.M. (2007). Additive Effects of Obesity and *TCF7L2* Variants on Risk for Type 2 Diabetes Among Cardiac Patients. *Diabetes care*, 30(6), 1621–2421.

- Ensembl. (2020a). Population genetics rs7903146. Retrieved from <https://lnk.sk/zv15>
- Ensembl. (2020b). Population genetics rs11196205 Retrieved from <https://lnk.sk/enaz>
- Grant, R.W., Moore, A. F., & Florez, J. C. (2009). Genetic Architecture of Type 2 Diabetes: Recent Progress and Clinical Implications. *Diabetes Care*, 32(6), 1107–1114.
- Gresham, D., Morar, B., Underhill, P.A., Passarino, G., Lin, A.A., Wise, Ch., ...Kalaydjieva L (2001). Origins and Divergence of the Roma (Gypsies). *American Journal of Human Genetics*, 69(6), 1341–1331.
- Groves, C.J., Zeggini, E., Minton, J., Frayling, T.M, Weedon, M.N., Rayner, N.W., ...McCarthy, M.I. (2006). Association analysis of 6,736 U.K. subjects provides replication and confirms TCF7L2 as a type 2 diabetes susceptibility gene with a substantial effect on individual risk. *Diabetes*, 55(9), 2640–2644.
- Helgason, A., Palsson, S., Thorleifsson, G., Grant, S.F, Emilsson, V., Gunnarsdottir, S., ...Stefansson, K., (2007). Refining the impact of TCF7L2 gene variants on type 2 diabetes and adaptive evolution. *Nature genetics*, 39(2), 218–225.
- Humphries, S.E., Gable, D., Cooper, J.A., Ireland, H., Stephens, J.W., Hurel, S.J., ...Talmud PJ (2006). Common variants in the TCF7L2 gene and predisposition to type 2 diabetes in UK European Whites, Indian Asians and Afro-Caribbean men and women. *Journal of molecular medicine*, 84(12), 1005–014.
- Chandak, G.R., Janipalli, C.S., Bhaskar, S., Kulkarni, S.R., Mohankrishna, P., Hattersley, A.T., ...Yajnik, C.S. (2006). Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population. *Diabetologia*, 50, 63–67.
- Jyothi, K.U., Jayaraj, M., Subburaj, K.S., Prasad, K.J., Kumuda, I., Lakshmi, V., & Reddy, B.M. (2013). Association of TCF7L2 Gene Polymorphisms with T2DM in the Population of Hyderabad, India. *PLoS ONE*, 8(4), e60212.
- Kokaisl. P. (2007). *Základy antropologie*. Praha: Nostalgie.
- Lavie, C. J., Milani, R. V., & Ventura, H. O. (2009). Obesity and cardiovascular disease: risk factors, paradox and impact of weight loss. *Journal of the American College of Cardiology*, 53, 1925–1932.
- Mastana, S.S., & Papiha, S.S. (1992). Origin of the Roma gypsies – genetic evidence. *Zeitschrift für Morphologie und Anthropologie*, 79(1), 43–51.
- Mokdad, A.H., Bowman, B.A., Ford, E.S., Vinicor, F., Marks, J.S., & Koplan, J.P. (2001). The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA*, 286(10), 1195–1200.
- Pang, D. X., Smith A. J. P., & Huuphries S. E. (2013). Functional analysis of TCF7L2 genetic variants associated with type 2 diabetes. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 23(6), 550–556.
- Sale, M.M., Smith, S.G., Mychaleckyj, J.C., Keene, K.L., Langefeld, C.D., Leak, T.S., ...Freedman BI. (2007). Variants of the Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene Are Associated With Type 2 Diabetes in an African-American Population Enriched for Nephropathy. *Diabetes*, 56(10), 1939–327X.
- Tong, Y., Lin, Y., Zhang, Y., Yang, J., Zhang, Y., Liu, H., & Zhang, B. (2009). Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. *BMC medical genetics*, 10, 15.
- Tsigos, C., Hainer, V., Basdevant, A., Finer, N., Fried, M., Mathus-Vliegen, E., ...Zahorska-Markiewicz, B. (2008). Management of obesity in adults: European clinical practise guidelines. *Obesity Facts*, 1(2), 106–116.
- Yan, Y., North, K.E., Ballantyne, C.M., Brancati, F.L., Chambless, L.E., Franceschini, N., ...Boerwinkle, E. (2009). Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Polymorphism and Context-Specific Risk of Type 2 Diabetes in African American and Caucasian Adults. *Diabetes*, 58(1), 285–289.
- Yi, F., Sun, J., Lim, G.E., Fantus, I.G., Brubaker, P.L., & Jin, T. (2008). Cross talk between the insuline and Wnt signaling pathway: evidence from intestinal endocrine L cell. *Endocrinology*, 149(5), 2341–2351.
- Mačeková, S., Klobošovská, I., Bernasovská, J., Boroňová, I., Dojčáková, D., Mathia, M., Gaľová, J., Petrejčiková, E., Šleboďová, M. (2021). Analýza génu TCF7L2 v spojitosti s obezitou ako kardiometabolickým rizikovým faktorom v rómskej a majoritnej populácii východného Slovenska. *Česká antropologie*, 71(1), 17–22.