

## ANALÝZA VYBRANÝCH POLYMORFIZMOV S OBEZITOU SÚVISIACICH GÉNOV *NEGR1*, *BDNF* A *MC4R* V RÓMSKEJ POPULÁCII VÝCHODNÉHO SLOVENSKA

Soňa Mačeková, Ľubomíra Lily Jurčišinová, Dorota Ondrušková, Stanislava Zahurančíková,  
Matúš Mathia, Iveta Boroňová, Jarmila Bernasovská, Dana Dojčáková

Prešovská univerzita v Prešove, Fakulta humanitných a prírodných vied, Katedra biológie, Ul. 17.  
novembra 1, 081 16, Prešov, Slovakia; e-mail: macekovasona@gmail.com

**Abstract:** Analysis of selected polymorphisms of obesity related genes *NEGR1*, *BDNF*, and *MC4R* in the Roma population of eastern Slovakia. The *NEGR1*, *BDNF* and *MC4R* genes are candidate genes for obesity. The aim of the work was to provide pilot information on allelic and genotypic frequencies of polymorphisms of rs2815752 *NEGR1* gene, rs10767664 *BDNF* gene and rs12970134 *MC4R* gene, as well as to investigate the association to obesity in the Roma minority of eastern Slovakia consisting of 456 evaluated individuals. The frequency of allele A of the *NEGR1* polymorphism was 90%, allele G 10%. In the *NEGR1* polymorphism, genotype AA represented 80.9%, AG 18.2% and GG 0.9%. The frequency of allele A of the *BDNF* polymorphism was 95% and allele T 5%. Individuals with genotype AA accounted for 92.4% of the analyzed group, with genotype AT 6.1% and TT genotype 1.5%. In the *MC4R* rs12970134 polymorphism, genotype GG represented 48.4%, GA 44.1% and AA 7.5%. The frequency of allele A was 29.5% and allele G 70.5%. In the case of the *MC4R* polymorphism, we recorded a statistically significant increase in the mean values with the presence of the risk allele in the genotype but only in the WHtR index ( $p=0.02$ ). When comparing the differences in mean values of other obesity indicators between the genotypes of the monitored polymorphisms, we found no significant differences.

**Key words:** Romanies, genetic factors, allele, genotype, frequency, obesity, Central Europe

### Úvod

Obezita je multifaktoriálne ochorenie. Genetické faktory majú na etiológii obezity 40- až 70-percentný podiel (Hoed et al. 2010). V súčasnosti sa výskumy stále viac zameriavajú predovšetkým na vplyv týchto faktorov. Doteraz bolo identifikovaných množstvo génov a ich polymorfizmov, ktoré sa spájajú so vznikom obezity. Medzi takéto kandidátne gény obezity patria aj gény *NEGR1*, *BDNF* a *MC4R*. Patologické alely kandidátnych génov môžu v pomerne častej frekvencii zohrávať úlohu v klinickom fenotype obezity, a to v kontexte rozdielnych podmienok prostredia. V súčasnosti existuje niekoľko genetických hypotéz, ktoré sa snažia vysvetliť vznik obezity u ľudí (Krahulec 2013). Teória úsporného genotypu predpokladá v priebehu evolúcie pozitívnu selekciu génov, ktoré podporujú vznik obezity z dôvodu prežitia; iná teória uvádza, že vyšší výskyt alel takýchto génov je náhodný a je skôr výsledkom genetického driftu (Sellayah et al. 2014). Rómovia na Slovensku predstavujú výraznú izolovanú skupinu, u ktorej populačné deje ako inbríding, efekt zakladateľa či genetický drift, môžu byť príčinou rozdielnych frekvencií alel genetických polymorfizmov a vysokého výskytu geneticky podmienených chorôb.

Gén *NEGR1* (Neuronal growth regulator 1) kóduje proteín a je lokalizovaný na pozícii 31.1 krátkeho ramienka 1. chromozómu. Hlavnou funkciou proteínu *NEGR1* je adhézia buniek prostredníctvom GPI kotvy na membránu iných buniek. Okrem toho sa zapája do rastu neuritov a podieľa sa na regulácii energetickej rovnováhy v organizme. *NEGR1* proteín je počas postnatálneho vývoja vo vysokých hladinách exprimovaný v mozgovej kôre, v hipokampe a v mozočku (Kaur et al.

2016). Okrem toho je exprimovaný aj v tukovom tkanive. Polymorfizmus rs2815752 génu *NEGR1* sa v súčasnosti čoraz viac skúma v súvislosti s rizikom vzniku obezity v rôznych populáciách. V polymorfizme rs2815752 génu *NEGR1* ide o substitučnú zmenu adenínu (A) za guanín (G). Za rizikový alelu v kontexte obezity sa pokladá alela A (Jarick et al. 2011).

Gén *BDNF* (Brain derived neurotrophic factor) je lokalizovaný na 11. chromozóme, na jeho kratšom ramienku v lokalizácii 11p14.1. Kóduje proteín patriaci do skupiny nervových rastových faktorov a jeho hlavnou úlohou je regulácia energetickej rovnováhy a podpora prežitia periférnych sensorických neurónov počas vývoja mozgu. Je exprimovaný v limbických štruktúrach, najmä v mozgovej kôre, mozočku, hipokampe, či amygdale. Proteín sa nachádza predovšetkým v oblastiach mozgu, ktoré regulujú pitie, stravovanie a taktiež telesnú hmotnosť, a tak prispieva k riadeniu týchto funkcií (BDNF gene 2020). Množstvo štúdií zameraných na polymorfizmy génu *BDNF* preukázalo asociáciu polymorfizmu rs10767664 s obezitou.

Gén *MC4R* (Melanocortin 4 receptor) predstavuje jeden z najviac študovaných „obezitogénnych“ génov. Gén je umiestnený na dlhšom ramienku 18. chromozómu v pozícii 18q21.32. Expresiou génu vzniká melanokortínový receptor 4 (MC4R), ktorý je zapojený do regulácie energetickej homeostázy. Receptor je súčasťou kaskády dejov vplývajúcich na príjem potravy. V období hladu sa na receptor viaže ligand agouti podobný proteín (AgRP), čo vedie k vylučovaniu orexínu, ktorý podporuje príjem potravy. V postprandiálnej fáze sa naň viaže  $\alpha$ -MSH (alfa-melanocyty stimulujúci hormón), čo naopak spôsobí inhibíciu príjmu potravy. Mutácie génu *MC4R* sú zodpovedné za 3,5 % prípadov výskytu monogénne podmienenej obezity. Polymorfizmus rs12970134 je jedným z viac ako tisíc dosiaľ zistených polymorfizmov génu *MC4R*. Patrí medzi významné polymorfizmy, uplatňujúce sa v rozvoji tzv. polygénne podmienenej obezity (Tao 2010). Rizikovou alelou je alela A, ktorej prítomnosť v genotype je asociovaná s výskytom nadhmotnosti a obezity (Scherag et al. 2010).

Vzhľadom na to, že gény *NEGR1*, *BDNF* a *MC4R* neboli doposiaľ študované v rómskej populácii na Slovensku, bolo cieľom predloženej práce získať prvotné informácie o alelových a genotypových frekvenciách polymorfizmov rs2815752 génu *NEGR1*, rs10767664 génu *BDNF* a rs12970134 génu *MC4R*, ako aj preskúmať ich súvislosť s obezitou v tejto populácii.

## Súbor a metódy

Súbor Rómov východného Slovenska tvorili vzorky DNA z biobanky katedry biológie Fakulty humánnych a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove. Všetci účastníci tejto štúdie poskytli písomný informovaný súhlas o použití vzorky biologického materiálu na účely molekulárno-genetickej analýzy. Na zistenie genotypovej a alelovej frekvencie polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* slúžil analyzovaný súbor 456 jedincov (183 mužov a 273 žien) s priemerným vekom  $37,92 \pm 13,35$  rokov. Na analýzu polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* sa použil súbor 197 jedincov (88 mužov a 109 žien) s priemerným vekom  $39,13 \pm 14,56$  rokov, kým na polymorfizmus rs12970134 génu *MC4R* to bolo 281 jedincov (125 žien a 156 mužov) s priemerným vekom  $38,63 \pm 8,90$  rokov. Pre asociačnú analýzu boli ako ukazovatele obezity vybrané antropometrické parametre (telesná hmotnosť v kg, obvod pásu v cm) a indexy (BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) – index telesnej hmotnosti, WHR – index pomeru obvodu pásu k obvodu bokov, WHtR index – pomer obvodu pásu k telesnej výške). Telesná hmotnosť sa merala u jedincov v ľahkom odevu na boso, na osobnej váhe s presnosťou 0,5 kg. Obvod pásu bol meraný periumbilikálne a obvod bokov peritrochantericky použitím textilnej pásovej miery. Genómová DNA sa získala z bukalných sterov, následne bola izolovaná metódou pomocou kolóniek podľa protokolu komerčného extrakčného kitu (Promega, Madison, USA). Genotypizácia sa realizovala metódou Real-time PCR podľa štandardného protokolu s použitím Taqman® SNP genotyping assay na prístrojoch ABI 7500 Fast Real-Time PCR a StepOne. Pre štatistické spracovanie výsledkov nášho výskumu sme použili softvér SPSS pre Windows v. 20 (SPSS, Inc., Chicago, USA). Kvalitatívne dáta boli vyjadrené ako absolútne čísla a frekvencie. Kvantitatívne dáta boli vyjadrené ako priemerná hodnota, jej štandardná odchýlka, minimálna a maximálna hodnota

analyzovaného parametra. Na testovanie sme podľa potreby použili Pearsonov chí-kvadrátový test a ANOVA test. Pre všetky štatistické testy slúžila ako hladina významnosti hodnota  $p < 0,05$ .

## Výsledky

Genotypovú a alelovú frekvenciu polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* vyšetřovaného súboru Rómov z východného Slovenska uvádzame v tab. 1. Genotyp *AA* bol zistený u 80,9 % jedincov. Genotyp *AG* sa vyskytoval u 18,2 % jedincov a genotyp *GG* sa zistil iba u 0,9 % jedincov. Frekvencia alely *A* bola 90 % a alely *G* 10 %.

Genotyp *AA* polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* sa vyskytoval u 92,4 % jedincov, heterozygotný genotyp *AT* vykazoval početnosť 6,1 % a frekvencia homozygotného genotypu *TT* bola 1,5 %. Frekvencia alely *A* bola 95 % a frekvencia alely *T* bola 5 % (tab. 1).

Distribúcia genotypových frekvencií polymorfizmu rs12970134 génu *MC4R* je uvedená v tab. 1. Genotypovou analýzou sme zistili, že genotyp *GG* vykazoval v celkovom súbore početnosť 48,4 %. Genotyp *GA* sa vyskytoval u 44,1 % probandov a genotyp *AA* u 7,5 %. Frekvencia rizikovej alely *A* bola 29,5 %.

Tab. 1: Alelové a genotypové frekvencie analyzovaných polymorfizmov génov *NEGR1*, *BDNF* a *MC4R* v rómskej populácii

Table 1: Allelic and genotypic frequencies of analyzed polymorphisms of *NEGR1*, *BDNF*, and *MC4R* genes in the Roma population

Polymorfizmus rs2815752 génu <i>NEGR1</i> n = 456			Polymorfizmus rs10767664 génu <i>BDNF</i> n = 197			Polymorfizmus rs12970134 génu <i>MC4R</i> n = 281		
Genotyp	%	n	Genotyp	%	n	Genotyp	%	n
<i>GG</i>	0,90	4	<i>TT</i>	1,50	3	<i>GG</i>	48,40	136
<i>GA</i>	18,20	83	<i>TA</i>	6,10	12	<i>GA</i>	44,10	124
<i>AA</i>	80,90	369	<i>AA</i>	92,40	182	<i>AA</i>	7,50	21
Frekvencia <i>G</i> alely	10,00	-	Frekvencia <i>T</i> alely	5,00	-	Frekvencia <i>G</i> alely	70,50	-
Frekvencia <i>A</i> alely	90,00	-	Frekvencia <i>A</i> alely	95,00	-	Frekvencia <i>A</i> alely	29,50	-
HWE	p = 0,78		HWE	p < 0,05		HWE	p = 0,21	

n – počet jedincov, HWE – Hardy-Weinbergova rovnováha, p – p-hodnota

n–number of individuals, HWE–Hardy-Weinberg equilibrium, p–p-value

Porovnanie rozdielov priemerných hodnôt antropometrických parametrov medzi genotypmi polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* je znázornené v tab. 2. Priemerná hodnota telesnej hmotnosti bola najvyššia u jedincov s jednou rizikovou alelou (*AG*)  $75,00 \pm 17,04$  kg, u nositeľov *AA* genotypu bola priemerná hodnota  $72,83 \pm 17,29$  kg, a jedinci s genotypom *GG* mali najnižšiu priemernú hodnotu telesnej hmotnosti ( $71,67 \pm 12,50$  kg). Zistili sme, že s prítomnosťou alely *A* polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* sa zvyšovala priemerná hodnota BMI indexu – *GG*  $27,15 \pm 4,50$  kg/m<sup>2</sup>, *AG*  $28,35 \pm 5,70$  kg/m<sup>2</sup> a *AA*  $29,15 \pm 6,73$  kg/m<sup>2</sup>. Trend zvyšovania priemernej hodnoty s prítomnosťou alely *A* sme pozorovali aj pri hodnotách WHtR indexu – *GG*  $0,60 \pm 0,05$ , *AG*  $0,62 \pm 0,09$  a *AA*  $0,63 \pm 0,11$ . Podobne ako pri BMI, ani v tomto prípade nebol rozdiel v priemerných hodnotách štatisticky významný.

Tab. 2: Porovnanie antropometrických parametrov medzi jednotlivými genotypmi polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* v rómskej populácii

Table 2: Comparison of anthropometric parameters between genotypes of the rs2815752 polymorphism of the *NEGR1* gene in the Roma population

Parameter	Genotyp	Priemer	SD	Min	Max	p
Hmotnosť (kg)	AA	72,83	17,29	38,00	134,00	<b>0,67</b>
	AG	75,00	17,04	47,00	130,00	
	GG	71,67	12,50	63,00	86,00	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	AA	29,15	6,73	18,58	49,52	<b>0,61</b>
	AG	28,35	5,70	18,78	43,94	
	GG	27,15	4,50	22,59	31,59	
Obvod pásu (cm)	AA	99,17	15,75	61,00	146,00	<b>0,94</b>
	AG	99,81	14,98	72,00	135,00	
	GG	97,33	8,08	90,00	106,00	
WHR	AA	0,94	0,08	0,74	1,25	<b>0,63</b>
	AG	0,96	0,08	0,76	1,14	
	GG	0,94	0,04	0,90	0,98	
WHtR	AA	0,63	0,11	0,38	0,95	<b>0,59</b>
	AG	0,62	0,09	0,44	0,81	
	GG	0,60	0,05	0,54	0,64	

BMI – index telesnej hmotnosti, WHR – pomer obvodu pásu k obvodu bokov, WHtR – pomer obvodu pásu k telesnej výške, p – p-hodnota, SD – smerodajná odchýlka, Min – minimálna hodnota, Max – maximálna hodnota

*BMI*–body mass index, *WHR*–waist to hip ratio, *WHtR*–waist to height ratio, *p*–*p*-value, *SD*–standard deviation, *Min*–minimum value, *Max*–maximum value

V tab. 3 je uvedené porovnanie priemerných hodnôt sledovaných parametrov medzi jednotlivými genotypmi polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF*. Najvyššia priemerná hodnota telesnej hmotnosti ( $80,00 \pm 17,82$  kg) a indexu BMI ( $31,47 \pm 6,37$  kg/m<sup>2</sup>) bola u heterozygótov *AT*. U homozygótov *AA* bola priemerná hodnota telesnej hmotnosti ( $72,08 \pm 18,82$  kg) v porovnaní s heterozygótmi nižšia o 7,92 kg a hodnota indexu BMI ( $27,93 \pm 6,51$  kg/m<sup>2</sup>) bola nižšia o 3,54 kg/m<sup>2</sup>. Homozygóti *TT* mali priemernú hodnotu telesnej hmotnosti  $59,67 \pm 10,69$  kg a indexu BMI  $23,59 \pm 5,59$  kg/m<sup>2</sup>. Pri obvode pásu sme pozorovali najvyššie hodnoty u jedincov s genotypom *AT*. Priemerná hodnota obvodu pásu u heterozygótov bola  $107,25 \pm 14,38$  cm. Pri genotype *AA* bola priemerná hodnota obvodu pásu ( $96,47 \pm 16,48$  cm) nižšia o 10,78 cm. Priemerná hodnota obvodu pásu bola najnižšia ( $91,67 \pm 4,93$  cm) u homozygótov *TT*. Rovnako aj pri indexe WHR a WHtR boli najnižšie priemerné hodnoty zaznamenané u jedincov s genotypom *TT*. Najvyššie priemerné hodnoty týchto indexov sa zistili u jedincov s heterozygotným genotypom. Signifikantné rozdiely v priemerných hodnotách sledovaných parametrov medzi jednotlivými genotypmi zaznamenané neboli.

Tab. 3: Porovnanie antropometrických parametrov medzi jednotlivými genotypmi polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* v rómskej populácii

Table 3: Comparison of anthropometric parameters between genotypes of the rs10767664 polymorphism of the *BDNF* gene in the Roma population

Parameter	Genotyp	Priemer	SD	Min	Max	p
Hmotnosť (kg)	AA	72,08	18,82	35,00	134,00	<b>0,18</b>
	AT	80,00	17,82	47,00	101,00	
	TT	59,67	10,69	48,00	69,00	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	AA	27,93	6,51	15,77	49,52	<b>0,09</b>
	AT	31,47	6,37	20,08	41,66	
	TT	23,59	5,59	17,63	28,72	
Obvod pásu (cm)	AA	96,47	16,48	62,00	146,00	<b>0,08</b>
	AT	107,25	14,38	80,00	132,00	
	TT	91,67	4,93	86,00	95,00	
WHR	AA	0,94	0,09	0,70	1,25	<b>0,06</b>
	AT	1,00	0,08	0,90	1,16	
	TT	0,93	0,04	0,90	0,97	
WHtR	AA	0,60	0,10	0,40	0,95	<b>0,06</b>
	AT	0,68	0,10	0,52	0,87	
	TT	0,57	0,03	0,54	0,61	

BMI – index telesnej hmotnosti, WHR – pomer obvodu pásu k obvodu bokov, WHtR – pomer obvodu pásu k telesnej výške, p – p-hodnota, SD – smerodajná odchýlka, Min – minimálna hodnota, Max – maximálna hodnota

*BMI*–body mass index, *WHR*–waist to hip ratio, *WHtR*–waist to height ratio *p*–*p*-value, *SD*–standard deviation, *Min*– minimum value, *Max*–maximum value

V asociačnej štúdií polymorfizmu rs12970134 génu *MC4R* sme najvyššiu priemernú hodnotu BMI zaznamenali u jedincov s genotypom AA ( $29,32 \pm 7,02$  kg/m<sup>2</sup>) a najnižšiu priemernú hodnotu BMI ( $27,31 \pm 6,13$  kg/m<sup>2</sup>) pri genotype GG. Priemerná hodnota obvodu pásu bola u GG homozygótov  $93,04 \pm 15,57$  cm, u heterozygótnych jedincov  $96,79 \pm 15,16$  cm a u jedincov s dvoma alelami (genotyp AA) bola najvyššia priemerná hodnota obvodu pásu ( $98,52 \pm 19,39$  cm). Štatisticky významný rozdiel sa zistil len pri indexe WHtR ( $p = 0,02$ ), kde sa hodnota indexu zvyšovala s prítomnosťou alely A v genotype ( $GG = 0,56 \pm 0,09$ ,  $GA = 0,59 \pm 0,09$ ,  $AA = 0,60 \pm 0,11$ ). Ostatné údaje o antropometrických parametroch sú uvedené v tab. 4.

Tab. 4: Porovnanie antropometrických parametrov medzi jednotlivými genotypmi polymorfizmu rs12970134 génu *MC4R* v rómskej populácii

Table 4: Comparison of anthropometric parameters between genotypes of the rs12970134 polymorphism of the *MC4R* gene in the Roma population

Parameter	Genotyp	Priemer	SD	Min	Max	p
Hmotnosť (kg)	AA	78,47	23,16	40,00	127,00	<b>0,34</b>
	AG	72,21	18,70	35,00	130,00	
	GG	74,06	18,16	37,00	130,00	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	AA	29,32	7,02	17,50	45,50	<b>0,41</b>
	AG	27,53	6,65	15,80	51,10	
	GG	27,31	6,13	15,80	48,10	
Obvod pásu (cm)	AA	98,52	19,39	67,00	134,00	<b>0,09</b>
	AG	96,79	15,16	67,00	137,00	
	GG	93,04	15,57	60,00	138,00	
WHR	AA	0,96	0,07	0,95	1,02	<b>0,19</b>
	AG	0,97	0,06	0,97	1,10	
	GG	0,95	0,08	0,95	1,20	
WHtR	AA	0,60	0,11	0,44	0,84	<b>0,02</b>
	AG	0,59	0,09	0,39	0,87	
	GG	0,56	0,09	0,37	0,92	

BMI – index telesnej hmotnosti, WHR – pomer obvodu pásu k obvodu bokov, WHtR – pomer obvodu pásu k telesnej výške, p – p-hodnota, SD – smerodajná odchýlka, Min – minimálna hodnota, Max – maximálna hodnota

*BMI*–body mass index, *WHR*–waist to hip ratio, *WHtR*–waist to height ratio *p*–*p*-value, *SD*–standard deviation, *Min*–minimum value, *Max*–maximum value

## Diskusia

Polygénny typ obezity je zapríčinený prítomnosťou variantov DNA vo viacerých génoch. Cieľom výskumov polygénovo podmienenej obezity je identifikácia patologického lóku, následné určenie rizikových alel a zistenie miery ich patogénneho vplyvu (Moleres et al. 2013). Jedným z kandidátnych génov s polygénym účinkom je aj gén *NEGR1*, ktorého polymorfizmus rs2815752 bol na základe štúdie GWAS z roku 2009 spojený s rizikom vzniku obezity (Willer et al. 2009). V súčasnosti sa stále skúmajú alelové a genotypové frekvencie tohto polymorfizmu v rôznych populáciách. Doposiaľ však neboli zisťované v rómskej minorite na Slovensku. Frekvencia alely A bola v nami vyšetřovanom súbore 90 % a alely G 10 %. V porovnaní s celosvetovou populáciou bola v skúmanom súbore frekvencia alely A tohto polymorfizmu podstatne vyššia (90 % vs. 68 %). V rámci populácií jednotlivých oblastí sveta frekvencie jeho alel rôzne varirujú. Najnižšia frekvencia (53 %) sa zaznamenala v africkej populácii. V európskej (EUR) a juhoázijskej populácii (SAS) sú frekvencie alely A navzájom podobné (EUR – 64 %; SAS – 62 %). O niečo vyššia frekvencia (70 %), bola zaznamenaná v americkej populácii. Najvyššia a v porovnaní s našim súborm najviac zhodná frekvencia sa zistila vo východoázijskej populácii (90 % vs. 93 %) (1000 Genomes 2020a). Nagy et al. (2017) uskutočnili štúdiu, prostredníctvom ktorej zistili alelovú frekvenciu polymorfizmu

rs2815752 u Rómov žijúcich v Maďarsku. Frekvencia *A* alely bola 73 %. V porovnaní s Rómami v našom súbore bola ich frekvencia o 17 % nižšia.

Pri analýze polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* bola frekvencia alely *A* v skúmanom súbore 95 % a alely *T* 5 %. Najnižšie hodnoty frekvencie alely *A* (51 %) sú uvádzané v čínskej populácii (1000 Genomes 2020b). V európskej populácii sa uvádza frekvencia 77 %. Kalaydjieva, Gresham a Calafell (2001) uvádzajú, že Rómovia pochádzajú zo subindického kontinentu. V juhoázijskej populácii, kam patria aj obyvatelia Indie, bola frekvencia rizikovej alely *A* polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* 70 %. V porovnaní s juhoázijskou populáciou bola frekvencia v nami sledovanom súbore Rómov o 25 % vyššia. V porovnaní s celosvetovo uvádzanou frekvenciou bola frekvencia alely *A* v našom súbore vyššia o 19 % (76 % vs. 95 %) a zhodná s africkou populáciou (95 %).

Pri analýze polymorfizmu rs12970134 génu *MC4R* bola frekvencia rizikovej alely *A* 29,5 %. V porovnaní s frekvenciou u celosvetovej populácie bola frekvencia alely *A* v našom súbore vyššia (29,5 % vs. 21 %). Juhoázijská populácia (obyvatelia Indie a Pakistanu) vykazuje najvyššiu hodnotu frekvencie, t. j. 32 %. V porovnaní s frekvenciou v juhoázijskej populácii bola frekvencia v skúmanom súbore o 2,5 % nižšia ale tiež o 2,5 % vyššia ako frekvencia danej alely v európskej populácii (27 %). Najnižšie hodnoty pre frekvenciu *A* alely polymorfizmu rs12970134 génu *MC4R* vykazujú čínska a africká populácia (14 % vs. 12 %) (1000 Genomes 2020c).

Okrem stanovenia frekvencií alel a genotypov je pri výskume obezity dôležité preskúmať súvislosť medzi genetickými determinantmi a parametrami, ktoré sú ukazovateľmi obezity. V skúmanom súbore rómskych jedincov z východného Slovenska sme vykonali asociačnú analýzu polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* s nadhmotnosťou a obezitou. Najvyššiu priemernú telesnú hmotnosť dosahovali jedinci s jednou rizikovou alelou *AG*  $75,00 \pm 17,04$  kg, naopak najnižšiu jedinci s dvoma ancestrálnymi alelami (genotyp *GG*)  $71,67 \pm 12,50$  kg. Zaznamenali sme trend zvyšovania sa priemernej hodnoty BMI indexu s prítomnosťou alely *A* (*GG*  $27,15 \pm 4,50$  kg/m<sup>2</sup>, *AG*  $28,35 \pm 5,70$  kg/m<sup>2</sup> a *AA*  $29,15 \pm 6,73$  kg/m<sup>2</sup>). Podobnú tendenciu sme zaznamenali aj pri priemerných hodnotách WHtR indexu (*GG*  $0,60 \pm 0,05$ , *AG*  $0,62 \pm 0,09$  a *AA*  $0,63 \pm 0,11$ ). Avšak ani u jedného z indexov sme medzi genotypmi nezaznamenali štatisticky významné rozdiely. Haupt et al. v roku 2010 uskutočnili štúdiu, do ktorej bolo zapojených 1 469 jedincov nemeckého pôvodu. Priemerné hodnoty telesnej hmotnosti pre všetky genotypy boli v porovnaní s našou skupinou vyššie (*GG*  $82,90 \pm 1,80$  kg, *AG*  $82,30 \pm 0,90$  kg, *AA*  $84,00 \pm 0,90$  kg). Podobne ako v našom súbore, zaznamenali s prítomnosťou rizikovej alely *A* trend zvyšovania sa hodnôt BMI indexu (*GG*  $28,00 \pm 0,60$  kg/m<sup>2</sup>, *AG*  $28,20 \pm 0,30$  kg/m<sup>2</sup> a *AA*  $29,00 \pm 0,30$  kg/m<sup>2</sup>), avšak významná asociácia polymorfizmu rs2815752 génu *NEGR1* s nadhmotnosťou a obezitou sa nepotvrdila.

V saudskeoarabskej populácii sa uskutočnila štúdia, kde sa zistil vplyv jednonukleotidových polymorfizmov na vznik obezity. Jedným z týchto polymorfizmov bol aj rs10767664 lokalizovaný v blízkosti génu *BDNF*, u ktorého prítomnosť alely *A* bola v asociácii so zvýšeným indexom BMI (Alharbi et al. 2014). U jedincov s genotypom *TT* bola priemerná hodnota BMI indexu  $26,11 \pm 5,90$  kg/m<sup>2</sup> a u heterozygótov predstavovala priemerná hodnota BMI indexu  $29,52 \pm 6,89$  kg/m<sup>2</sup>. Najvyššiu priemernú hodnotu zaznamenali u jedincov s rizikovým genotypom *AA* ( $31,39 \pm 7,17$  kg/m<sup>2</sup>; Alharbi et al. 2014). Pri analýze polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* v skúmanom súbore Rómov sme pri porovnávaní priemerných hodnôt antropometrických parametrov a indexov obezity medzi jednotlivými genotypmi, predpokladali zvyšovanie priemerných hodnôt u jedincov s každou pribúdajúcou alelou *A*. U jedincov s prítomnosťou dvoch alebo jednej alely *A* v genotype sme pozorovali vyššie priemerné hodnoty antropometrických parametrov (telesná hmotnosť a obvod pásu) a indexov obezity (BMI, WHR a WHtR) oproti jedincom bez alely *A*. Avšak priemerné hodnoty boli najvyššie u jedincov s heterozygotným genotypom (*AT*). Signifikantnú asociáciu polymorfizmu rs10767664 génu *BDNF* s obezitou sme u rómskej populácie nášho súboru nepotvrdili.

V tejto geneticko-asociačnej analýze sme tiež sledovali súvislosť medzi polymorfizmom rs12970134 génu *MC4R* a prítomnosťou nadhmotnosti a obezity u rómskej populácie na Slovensku. V štúdií Poveda, Ibáñez a Rebato (2014) autori analyzovali tento polymorfizmus u španielskych Rómov. Signifikantná asociácia polymorfizmu rs12970134 s indexom BMI nebola potvrdená v našej ( $p = 0,41$ ), ani v španielskej štúdií ( $p = 0,71$ ), avšak v štúdií Rómov v Španielsku sa preukázala pri indexe WHR ( $p = 0,01$ ), v našej štúdií pri indexe WHtR ( $p = 0,02$ ).

## Záver

Keďže podobný výskum sa v rómskej populácii na Slovensku doposiaľ neuskutočnil, prináša predložená práca pilotné informácie o alelových a genotypových frekvenciách vybraných polymorfizmov génov *NEGR1*, *BDNF* a *MC4R*. Analýza polymorfizmov rs2815752 génu *NEGR1* a rs10767664 génu *BDNF* nepotvrdila významnú asociáciu s obezitou. Pri polymorfizme rs12970134 génu *MC4R* bol s prítomnosťou A alely zaznamenaný nárast priemerných hodnôt BMI aj obvodu pása, avšak štatisticky významný bol len nárast pri indexe WHtR. Keďže analýza asociácie s obezitou sa vykonala iba v populačnej vzorke, navrhujeme detailnejšiu asociačnú analýzu v prípadovej štúdií obéznych Rómov, ktorá by mohla potvrdiť alebo vyvrátiť publikovaný vplyv týchto génov na riziko vzniku obezity. Asociačné štúdie sú jedným z najužitočnejších nástrojov na detekciu polymorfizmov spojených s obezitou a s ňou súvisiacimi komorbiditami. Výsledky takýchto molekulárno-genetických štúdií poskytujú cenné informácie, ktoré tvoria základ pre objasnenie vplyvu genetických variantov na rozvoj obezity a taktiež prispievajú k vytvoreniu lepších stratégií prevencie a liečby tohto ochorenia.

## PodĎakovanie

Výskum bol podporený projektom APVV 15-0556 a APVV-0644-12.

## Literatúra

ALHARBI, K. K., RICHARDSON, T. G., KHAN, I. A., SYED, R., MOHAMMED, A. K., BOUSTRED, C. R., GAUNT, T. R., TAMIMI, W., AL-DAGHRI, M. N., DAY, I. M. M., 2014: Influence of adiposity-related genetic markers in a population of Saudi Arabians where other variables influencing obesity may be reduced. *Dis. Markers*, 2014:758232. Online. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4251424/pdf/DM2014-758232.pdf>. 15. 7. 2020.

BDNF GENE, 2020: GeneCards. Online. Available: <https://lnk.sk/efE3>. 20. 5. 2020.

HAUPT, A., THAMER, C., HENI, M., MACHICAO, F., MACHANN, J., SCHICK, F., STEFAN, N., FRITSCH, A., HÄRING, H. U., STAIGER, H., 2010: Novel obesity risk loci do not determine distribution of body fat depots: a whole-body MRI/MRS study. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 18(6):1212-1217.

HOED, M., EKELUND, U., BRAGE, S., GRONTVED, A., ZHAO, J. H., SHARP, S. J., ONG, K. K., WAREHAM, N. J., LOOS, R. J. F., 2010: Genetic Susceptibility to Obesity and Related Traits in Childhood and Adolescence. *Diabetes*, 59(11):2980-2988.

JARICK, I., VOGEL, C. I. G., SCHERAG, S., SCHÄFER, H., HEBEBRAND, J., HINNEY, A., SCHERAG, A., 2011: Novel common copy number variation for early onset extreme obesity on chromosome 11q11 identified by a genome-wide analysis. *Hum. Mol. Genet.*, 20(4):840-852.

KALAYDJIEVA, L., GRESHAM, D., CALAFELL, F., 2001: Genetic studies of the Roma (Gypsies): a review. *BMC Medical Genetics*, 2(5):1471-2350.

KAUR, P., TAN, J. R., KAROLINA, D. S., SEPRAMANIAM, S., ARMUGAM, A., WONG, P. T. H., JEYASEELAN, K., 2016: A long non-coding RNA, BC048612 and a microRNA, miR-203 coordinate the gene expression of neuronal growth regulator 1 (NEGR1) adhesion protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863(4):533-543.

KRAHULEC, B., 2013. *Klinická obezitológia*. Brno, Facta Medica, 336 s.

MOLERES, A., MARTINEZ, J. A., MARTI, A., 2013: Genetics of obesity. *Current Obesity Reports*, 2(1):23-31.

NAGY, K., FIATAL, S., SÁNDOR, J., ÁDÁNY, R., 2017: Distinct penetrance of obesity associated susceptibility alleles in the Hungarian General and Roma populations. *Obesity Facts*, 10(5):444-457.

POVEDA, A., IBÁÑEZ, M. E., REBATO, E., 2014: Obesity and body size perceptions in a Spanish Roma population. *Ann. Hum. Biol.*, 41(5):428-435.

SELLAYAH, D., CAGAMPANG, F. R., COX, R. D., 2014: On the evolutionary origins of obesity: a new hypothesis. *Endocrinology*, 155(5):1573-1588.

SCHERAG, A., JARICK, I., GROTHE, I., BIEBERMANN, H., SCHERAG, S., VOLCKMAR, A. L., VOGEL, C. I. G., GREENE, B., HEBEBRAND, J., HINNEY, A., 2010: Investigation of a genome wide association signal for obesity: synthetic association and haplotype analyses at the melanocortin 4 receptor gene locus. *Plos One*, 5(11):e13967. Online. Available: <https://lnk.sk/rcmo>. 22. 4. 2020.

TAO, Y. X., 2010: The Melanocortin-4 Receptor: Physiology, Pharmacology, and Pathophysiology. *Endocrine Reviews*, 31(4):506-543.

WILLER, C. J., SPELIOTES, E. K., LOOS, R. J. F., LI, SH., LINDGREN, C. M., HEID, I. M., BERNDT, S. I., ELLIOTT, A. L., JACKSON, A. U., LAMINA, C., LETTRE, G., LYON, N. L. H. N., AND THE GIANT CONSORTIUM, 2009: Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature Genetics*, 41(1):25-34.

1000 GENOMES, 2020a: Population genetics. Rs2815752 SNP. Online. Available: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;v=rs2815752;vdb=variation#373507\\_tablePanel](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;v=rs2815752;vdb=variation#373507_tablePanel). 9. 6. 2020.

1000 GENOMES, 2020b: Population genetics. Rs10767664 SNP. Online. Available: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?r=11:2770393927704939;v=rs10767664;vdb=variation;vf=85797055](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=11:2770393927704939;v=rs10767664;vdb=variation;vf=85797055). 9. 6. 2020.

1000 GENOMES, 2020c: Population genetics. Rs12970134 SNP. Online. Available: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=18:6021701760218017;v=rs12970134;vdb=variation;vf=9680167](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=18:6021701760218017;v=rs12970134;vdb=variation;vf=9680167). 9. 6. 2020.