

Revista Brasileira de Reumatologia



Todo o conteúdo deste periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons. Fonte:

https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042012000400005&lng=pt&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 04 dez. 2020.

REFERÊNCIA

MOTA, Licia Maria Henrique da *et al.* Ausência de associação entre o genótipo CC do polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2 e artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 52, n. 4, p. 523-528, jul./ago. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0482-50042012000400005>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042012000400005&lng=pt&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 04 dez. 2020.

Ausência de associação entre o genótipo CC do polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2 e artrite reumatoide

Licia Maria Henrique da Mota¹, Francieli de Souza Rabelo², Francisco Aires Corrêa Lima², Rodrigo Aires Corrêa Lima³, Jozélio Freire de Carvalho⁴, Gustavo Barcelos Barra⁵, Angélica Amorim Amato⁶

RESUMO

Introdução: TCF7L2 é um fator de transcrição envolvido na sinalização Wnt/beta-catenina e tem uma variante conhecida por associar-se consistentemente com o risco de diabetes tipo 2. Alguns estudos também relataram sua associação com o risco de alguns tipos de câncer. **Objetivo:** Como essa via pode também estar envolvida na fisiopatologia de outras doenças inflamatórias crônicas, tais como artrite reumatoide, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito do polimorfismo rs7903146 do gene TCF7L2 na gravidade da artrite reumatoide em uma população brasileira. **Pacientes e métodos:** Esse polimorfismo foi genotipado em 208 pacientes com artrite reumatoide e em 104 controles saudáveis. Analisou-se também a associação desse polimorfismo com história de tabagismo, classe funcional e indicadores radiológicos de gravidade da doença. **Resultados:** A distribuição dos genótipos CC, CT e TT do polimorfismo rs7903146 do gene TCF7L2 não diferiu entre pacientes e controles, nem se encontrou qualquer associação entre o genótipo e os indicadores de gravidade da doença ou história de tabagismo. Quando os dados foram avaliados usando-se o modelo dominante, no qual portadores dos genótipos CT e TT foram agrupados, observou-se um aumento do alelo T em pacientes com fator reumatoide positivo e erosões, embora não significativo. A frequência do alelo T também estava aumentada nos pacientes com classe funcional II quando comparados àqueles com classe I (P = 0,032). **Conclusão:** É possível que o pequeno número de pacientes incluído neste estudo tenha dificultado achados adicionais. Outros estudos são, portanto, necessários para que se investigue o papel das variantes do gene TCF7L2 no risco de artrite reumatoide e sua gravidade.

Palavras-chave: proteínas Wnt, artrite reumatoide, código genético, polimorfismo genético.

© 2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória sistêmica crônica e progressiva de etiologia desconhecida. Envolve primariamente a membrana sinovial, podendo levar à destruição de osso e cartilagem.¹ A AR afeta cerca de 0,5%–1% da população mundial, podendo chegar a 5%, dependendo da idade e do grupo étnico estudado.²

A despeito dos importantes avanços no tratamento da AR nas últimas décadas devido ao desenvolvimento de exames laboratoriais e de imagem apropriados, tais exames ainda apresentam um valor limitado para o diagnóstico precoce da AR e para a definição de prognóstico individual, o que pode limitar o efeito terapêutico dos medicamentos disponíveis.³ Melhor compreensão dos fatores fisiopatológicos relacionados à doença seria de grande valor para o estabelecimento de tratamento precoce e eficaz.

Recebido em 05/09/2011. Aprovado, após revisão, em 08/05/2012. GBB declara ser pesquisador no Laboratório Sabin de Análises Clínicas S.A. Os demais autores declaram a inexistência de conflito de interesse. Comitê de Ética: 2008 E23.

Serviço de Reumatologia e Serviço de Endocrinologia Sabin Laboratório de Análises Clínicas; Hospital Universitário de Brasília – HUB.

1. Doutora em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – FMUnB; Professora Colaboradora de Clínica Médica e do Serviço de Reumatologia, FMUnB

2. Reumatologista, Hospital Universitário de Brasília – HUB

3. Reumatologista, HUB e Hospital de Base do Distrito Federal

4. Doutor em Reumatologia, Centro Médico, Hospital Aliança, Salvador, Bahia

5. Pesquisador no Laboratório Sabin de Análises Clínicas S.A.

6. Endocrinologista; Doutora em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília – FCSUnB; Professora-Adjunta da Faculdade de Farmácia, UnB

Correspondência para: Licia Maria Henrique da Mota. Centro Médico de Brasília. SHLS 716 – bloco E – salas 501/502. Brasília, DF, Brasil. CEP: 70390-904.

E-mail: liciamhmota@yahoo.com.br

Vários estudos enfatizaram o importante papel desempenhado pelas células sinoviais fibroblasto-*like* ativadas (FLS) na patogênese da AR, uma vez que uma população de FLS hiperplásicas poderia promover infiltração leucocitária e retenção.⁴ A sinóvia reumatoide acaba por transformar-se em um *pannus* que destrói a cartilagem articular e o osso.⁴ Os mecanismos subjacentes envolvidos na ativação de FLS ainda permanecem desconhecidos. Foi sugerido que a via de sinalização Wingless (Wnt) – Frizzled (Fz) poderia ter importância na ativação autônoma de FLS.⁴

De fato, os genes que codificam proteínas na via de sinalização Wnt-Fz apresentam alta expressão nos tecidos sinoviais na AR.⁴ Wnt é uma família de glicoproteínas secretadas que se ligam a receptores acoplados à proteína G da superfície celular da família Fz para induzir cascatas intracelulares envolvidas com crescimento e diferenciação celular.⁵ Recentemente sugeriu-se que tais cascatas também poderiam contribuir para iniciar um fenótipo FLS ativado em um processo de manutenção celular após lesão articular,⁶ e tal ativação de FLS poderia levar ao acúmulo de quinases ativadas e fatores de transcrição e crescimento que pudessem orientar a patogênese da AR.⁵

Foram reconhecidas duas vias diferentes Wnt-Fz: as vias de sinalização canônica (ou dependente de β -catenina) e a não canônica (ou independente de β -catenina).⁵ Uma das proteínas da cascata intracelular ativada por sinalização dependente de β -catenina é o fator de transcrição *7-like 2* (TCF7L2), que recentemente foi foco de vários estudos sobre doenças humanas, pois algumas variantes comuns do gene TCF7L2 foram associadas ao risco de se desenvolver diabetes tipo 2 (DT2)⁶ e certos tipos de câncer.⁷⁻⁹

O TCF7L2 codifica o TCF4, um fator de transcrição envolvido na via de sinalização Wnt/ β -catenina, e desempenha um papel crítico na embriogênese e no controle de proliferação e diferenciação celular, estando também envolvido em diversos processos fisiológicos na vida adulta.¹⁰ Estudos recentes associaram o polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2 ao risco de desenvolvimento de DT2, possivelmente pelo comprometimento da função de células beta-pancreáticas.¹¹⁻¹⁴ Além disso, uma forte correlação entre DT2 e o alelo T do polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2 foi descrita na Dinamarca, nos Estados Unidos e na Islândia.^{7,15} Essa mesma correlação foi verificada em outras populações, como na Ásia oriental, Europa, África ocidental e Escandinávia.¹⁶⁻¹⁹ Essa variante genética também foi associada ao risco de neoplasias malignas de próstata,²⁰ cólon⁸ e mama.⁹

Sugere-se ainda o envolvimento da via Wnt na resposta inflamatória e na fisiopatologia da doença inflamatória crônica, como é o caso da AR.⁴ O complexo Wnt/Fz é responsável por controlar a formação de tecido na embriogênese e durante o desenvolvimento dos membros e a formação das articulações.⁴ Sen *et al.*²¹ estudaram o papel de um dos pares receptor-ligante da via de sinalização Wnt-Fz, principalmente Wnt-5A e Fz5, na ativação de FLS, que resulta na produção de citocinas inflamatórias e quimiotáticas nas articulações de pacientes com AR. O bloqueio da sinalização Wnt-5A/Fz5 diminui a expressão de citocinas induzidas por IL6 e IL15, tal como RANKL, e até reduz a ativação sinovial.²¹ Um outro estudo demonstrou que a ativação da sinalização Wnt em condrócitos induz à degradação da matriz cartilaginosa, que é semelhante ao que ocorre na osteoartrite e na AR.²² Vários estudos sugeriram que a sinalização Wnt aumenta a formação óssea por meio da regulação da proliferação e da diferenciação de osteoblastos e osteoclastos.²³ Além disso, a sinalização Wnt pode promover estimulação da expressão da osteoprotegerina nos osteoblastos. Como a osteoprotegerina inibe a diferenciação de osteoclastos, a sinalização pode aumentar parcialmente a massa óssea ao bloquear a reabsorção óssea pelos osteoclastos.²³

A ativação do sistema imune antes do início das manifestações clínicas da doença sugere que a AR clínica já represente uma doença crônica. Alguns estudos mostraram que o tratamento das doenças autoimunes, quando iniciado o mais cedo possível, antes do desenvolvimento das manifestações da doença, pode retardar a progressão da doença e melhorar o prognóstico do paciente.^{24,25} Assim, os genes que codificam proteínas da via de sinalização Wnt são possíveis candidatos, cujas variantes poderiam estar relacionadas ao risco de desenvolver doença ou à sua gravidade.

Os mecanismos subjacentes à associação dos polimorfismos TCF7L2 com o risco de DT2 e neoplasias malignas ainda são pouco claros. Considerando-se que tais doenças têm em comum com a AR um componente de resposta inflamatória, e considerando-se o papel da via de sinalização Wnt-Fz nessa resposta, a investigação da frequência de variantes comuns TCF7L2 nas doenças inflamatórias sistêmicas, como AR, poderia contribuir para melhorar o entendimento dos mecanismos envolvidos no risco aumentado de doença em situações de expressão anormal do gene TCF7L2.²⁶ Dados os possíveis benefícios, propôs-se um estudo caso-controle para avaliar a associação entre o polimorfismo rs7903146 de nucleotídeo único do gene TCF7L2 e a atividade de AR.

PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes

Após aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Brasília (CEP/UnB), os pacientes selecionados foram informados sobre o conteúdo e o objetivos da pesquisa, os benefícios esperados, a liberdade de recusa e a garantia de confidencialidade e privacidade. Aqueles que concordaram em participar assinaram o termo de consentimento livre e informado.

Um total de 208 pacientes com AR atendidos no Ambulatório de Artrite Reumatoide do Hospital Universitário de Brasília foi selecionado por conveniência para o estudo. Eles atendiam aos critérios classificatórios para AR do *American College of Rheumatology* (ACR 1987).

Os seguintes dados dos pacientes foram obtidos a partir de questionário ou retrospectivamente, por meio de consulta ao prontuário médico: idade, gênero, histórico pessoal de DT2, histórico de tabagismo, idade na ocasião do diagnóstico de AR, tempo desde o diagnóstico de AR e classificação do *status* funcional. Os resultados da dosagem do fator reumatoide (FR) no soro também foram obtidos por revisão dos prontuários médicos; em todos os pacientes, o FR foi medido por nefelometria, e valores acima de 15 UI/mL foram considerados positivos.

Dados radiográficos também foram obtidos e incluíram a presença de erosão nas mãos, pulsos, pés e tornozelos dos pacientes. Integrantes da equipe de radiologia do Hospital Universitário de Brasília, que realizam rotineiramente tais exames, avaliaram as imagens.

Coleta, purificação e genotipagem de DNA

Uma amostra de 5 mL de sangue venoso foi obtida a partir de punção de veia periférica usando-se material descartável; o sangue armazenado em recipientes continha EDTA. A amostra foi coletada no ambulatório ou no laboratório.

O DNA foi extraído das amostras pelo método Chelex-100,²⁷ e a genotipagem do polimorfismo rs7903146 foi conduzida pela reação em cadeia da polimerase alelo-específica (PCR-AE). Os *primers* e as condições foram anteriormente descritos.²⁸

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a testes estatísticos apropriados. As variáveis tabagismo, FR, erosões e classe funcional foram descritas nos pacientes de uma análise polimórfica usando-se frequências absolutas e relativas.

Associação com polimorfismo foi averiguada por meio dos testes qui-quadrado ou de verossimilhança.²⁹ O teste qui-quadrado foi usado para avaliar se a frequência do genótipo observada era consistente com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Modelos de regressão logística foram implementados para cada um dos seguintes dados, controlados para idade e gênero: histórico de tabagismo, classe funcional e erosões na radiografia. Os modelos também estimaram a razão de chance com seus respectivos intervalos de confiança de 95%.³⁰ O nível de significância adotado foi $P < 0,05$.

RESULTADOS

Este estudo incluiu 208 pacientes com diagnóstico de AR com idade média de $51,55 \pm 13,19$ anos, dos quais a maioria era mulheres (87,5%). A idade média por ocasião do diagnóstico foi de 37,3 anos, e o tempo médio de doença foi de 8,1 anos, avaliado pelo tempo desde o diagnóstico.

A distribuição do genótipo do polimorfismo rs7903146 do gene TCF7L2 foi 47,6% CC, 45,2% CT e 7,2% TT, consistente com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Isso resultou nas seguintes frequências de alelos: alelo C, 70,2%; e alelo T, 29,8% (Tabela 1).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os genótipos CC, CT e TT e os seguintes indicadores de gravidade da doença reumatoide: tabagismo ($P = 0,691$); FR ($P = 0,418$);

Tabela 1

Distribuição genotípica de acordo com os grupos-controle e de pacientes

Variável	Grupo						P
	Controle		AR		Total		
	N	%	N	%	N	%	
Gênero							< 0,001
Masculino	62	59,6	26	12,5	88	28,2	
Feminino	42	40,4	182	87,5	224	71,8	
Genótipo TCF7L2							0,07
CC	43	41,3	99	47,6	142	45,5	
CT	45	43,3	94	45,2	139	44,6	
TT	16	15,4	15	7,2	31	9,9	
Genótipo TCF7L2							0,296
CC	43	41,3	99	47,6	142	45,5	
CT ou TT	61	58,7	109	52,4	170	54,5	
Total	104	100	208	100	312	100	
Alelo							0,069
C	131	63,0	292	70,2	423	67,8	
T	77	37,0	124	29,8	201	32,2	
Total	208	100	416	100	624	100	

AR: artrite reumatoide.

presença de erosões ($P = 0,261$) e classes funcionais I, II, III e IV ($P = 0,328$) (Tabela 2).

Os dados também foram avaliados usando-se o modelo dominante, no qual portadores dos genótipos CT e TT foram agrupados para análise de regressão logística com controle de gênero e idade (Tabela 3). Um aumento não significativo foi observado na probabilidade de surgimento do alelo T em pacientes

Tabela 2

Distribuição genotípica e correlação com tabagismo e indicadores da gravidade da doença nos pacientes

Variável	Genótipo TCF7L2								P
	CC		CT		TT		Total		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Tabagismo									0,691
Não	62	62,6	62	66,0	11	73,3	135	64,9	
Sim	37	37,4	32	34,0	4	26,7	73	35,1	
FR									0,418*
Não	29	31,2	21	22,8	3	23,1	53	26,8	
Sim	64	68,8	71	77,2	10	76,9	145	73,2	
Erosões									0,261
Não	54	56,3	48	51,1	11	73,3	113	55,1	
Sim	42	43,8	46	48,9	4	26,7	92	44,9	
Classe funcional									0,328*
I	44	44,4	30	31,9	6	40,0	80	38,5	
II	25	25,3	36	38,3	6	40,0	67	32,2	
III	18	18,2	21	22,3	2	13,3	41	19,7	
IV	12	12,1	7	7,4	1	6,7	20	9,6	

FR: fator reumatoide. *Resultado do teste de verossimilhança.

Tabela 3

Distribuição genotípica e correlação com tabagismo e indicadores da gravidade da doença nos pacientes, ajustados para gênero e idade (regressão logística)

Variável	Genótipo TCF7L2				OR*	95% IC	OR**	95% IC	P
	CC		CT ou TT						
	N	%	N	%					
Tabagismo									
Não	62	62,6	73	67	1				
Sim	37	37,4	36	33	0,83	0,47-1,46	0,81	0,44-1,48	0,485
FR									
Não	29	31,2	24	22,9	1				
Sim	64	68,8	81	77,1	1,53	0,81-2,88	1,5	0,79-2,84	0,214
Erosões									
Não	54	56,3	59	54,1	1				
Sim	42	43,8	50	45,9	1,09	0,63-1,89	1,13	0,65-1,98	0,668
Classe funcional									
I	44	44,4	36	33	1				
II	25	25,3	42	38,5	2,05	1,06-3,98	2,11	1,07-4,19	0,032
III	18	18,2	23	21,1	1,56	0,73-3,33	1,59	0,73-3,46	0,247
IV	12	12,1	8	7,3	0,81	0,3-2,21	0,8	0,27-2,31	0,675

FR: fator reumatoide. *Não ajustado; **Ajustado para gênero e idade.

que apresentavam positividade para FR e erosões. Entretanto, na análise da classe funcional houve um aumento na frequência do alelo T em pacientes em classe funcional II quando comparados àqueles em classe funcional I ($P = 0,032$). Para as demais classes funcionais, um aumento estatisticamente significativo na probabilidade de surgimento do polimorfismo não foi observado ($P = 0,247$ e $P = 0,675$ para classes III e IV, respectivamente).

DISCUSSÃO

Este estudo foi pioneiro na avaliação de associação entre o genótipo CC do polimorfismo rs790146 no gene TCF7L2 e algumas características da AR. Embora não se tenha encontrado uma associação entre AR e o polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2, nossos resultados sugerem uma tendência, ainda que não estatisticamente significativa, de que o alelo T seja menos representado no grupo de pacientes que no grupo-controle.

Neste estudo, um aumento não significativo na frequência do alelo C do polimorfismo rs7903146 no gene TCF7L2 foi encontrado em pacientes com AR. Uma correlação estatisticamente relevante foi observada entre o alelo T e a classe funcional II de AR. O significado de tais achados é incerto; o reduzido número de pacientes incluídos neste estudo pode ter contribuído, assim como o fato de que o grupo-controle tenha sido selecionado por conveniência e, portanto, não pareado com o grupo de pacientes.

Até onde sabemos, não ficou demonstrado que as frequências alélicas do polimorfismo rs7903146 no gene

TCF7L2 variam de acordo com gênero ou grupo étnico, exceto na população chinesa, na qual foi mostrado que a frequência do alelo T do polimorfismo rs7903146 é baixa.³¹ As frequências alélicas encontradas no grupo-controle do presente estudo são semelhantes àquelas descritas em indivíduos saudáveis incluídos nos grupos-controle de outros estudos envolvendo aquele polimorfismo. Entretanto, as diferenças de gênero e idade média entre os grupos de pacientes e controle neste estudo são limitações importantes, pois a AR é mais comum em mulheres após os 40 anos. Isso pode ter impedido o achado de possíveis diferenças genotípicas entre eles.

Este é provavelmente o primeiro estudo que avaliou a correlação entre a variante TCF7L2 e a doença reumatológica. Além disso, é o primeiro a demonstrar a associação de um polimorfismo daquele gene com a classe funcional da AR. Embora este estudo tenha muitas limitações que impedem conclusões definitivas sobre o significado desses achados, abrem-se novas perspectivas para a investigação da fisiopatologia da AR. Estudos adicionais são necessários para a confirmação desses resultados e o esclarecimento do papel do gene TCF7L2 no risco de AR e na determinação de sua gravidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos que participaram da execução deste estudo: Jamille Nascimento Carneiro, Luciana Alves Almeida, Regina Alice Fontes Von Kirchenheim, Talita Yokoy, Ana Cristina V Oliveira, Clarissa Ferreira de Castro, Rodrigo Aires Corrêa Lima, Ludmila Alves Sanches Dutra, Patrícia Godoy Garcia Costa, Lara Franciele Ribeiro Velasco, Lídia Freire Abdalla, Janete Ana Ribeiro Vaz, Sandra Santana Soares Costa, Deborah Souza Rabelo e Daniel V. Oliveira.

REFERENCES

REFERÊNCIAS

- van der Horst-Bruinsma IE, Speyer I, Visser H, Breedveld FC, Hazes JM. Diagnosis and course of early-onset arthritis: results of a special early arthritis clinic compared to routine patient care. *Rev Bras Reumatol* 1998; 37:1084–8.
- Keen HI, Emery P. How should we manage early rheumatoid arthritis? From imaging to intervention. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17(3):280–5.
- Cabral D, Katz JN, Weinblatt ME, Ting G, Avorn J, Solomon DH. Development and assessment of indicators of rheumatoid arthritis severity: results of a Delphi panel. *Arthritis Rheum* 2005; 53(1):61–6.
- Sen M. Wnt signalling in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(6):708–13.
- Cheon H, Boyle DL, Firestein GS. Wnt1 inducible signaling pathway protein-3 regulation and microsatellite structure in arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31(11):2106–14.
- Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20:781–810.
- Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J *et al.* Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2006; 38(3):320–3.
- Folsom AR, Pankow JS, Peacock JM, Bielinski SJ, Heiss G, Boerwinkle E. Variation in TCF7L2 and increased risk of colon cancer: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Diabetes* 2008; 31(5):905–9.
- Burwinkel B, Shanmugam KS, Hemminki K, Meindl A, Schmutzler RK, Sutter C *et al.* Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) variant is associated with familial breast cancer risk: a case-control study. *BMC Cancer* 2006; 6:268.
- Prunier C, Hoyer BA, Howe PH. Wnt signaling: physiology and pathology. *Growth Factors* 2004; 22(3):141–50.
- Salonen JT, Uimari P, Aalto JM, Pirskanen M, Kaikkonen J, Todorova B *et al.* Type 2 diabetes whole-genome association study in four populations: the DiaGen consortium. *Am J Hum Genet* 2007; 81(2):338–45.
- Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P *et al.* Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2007; 117(8):2155–63.
- Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL *et al.* A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007; 316(5829):1341–5.
- Wang J, Kuusisto J, Vanttinen M, Kuulasmaa T, Lindström J, Tuomilehto J *et al.* Variants of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene predict conversion to type 2 diabetes in the Finnish Diabetes Prevention Study and are associated with impaired glucose regulation and impaired insulin secretion. *Diabetologia* 2007; 50(6):1192–200.
- Helgason A, Pálsson S, Thorleifsson G, Grant SF, Emilsson V, Gunnarsdottir S *et al.* Refining the impact of TCF7L2 gene variants on type 2 diabetes and adaptive evolution. *Nat Genet* 2007; 39(2):218–25.
- Hayashi T, Iwamoto Y, Kaku K, Hirose H, Maeda S. Replication study for the association of TCF7L2 with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. *Diabetologia* 2007; 50(5):980–4.
- Mayans S, Lackovic K, Lindgren P, Ruikka K, Agren A, Eliasson M *et al.* TCF7L2 polymorphisms are associated with type 2 diabetes in northern Sweden. *Eur J Hum Genet* 2007; 15(3):342–6.
- Chandak GR, Janipalli CS, Bhaskar S, Kulkarni SR, Mohankrishna P, Hattersley AT *et al.* Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population. *Diabetologia* 2007; 50(1):63–7.
- Cauchi S, Meyre D, Dina C, Choquet H, Samson C, Gallina S *et al.* Transcription factor TCF7L2 genetic study in the French population: expression in human beta-cells and adipose tissue and strong association with type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; 55(10):2903–8.
- Agalliu I, Suuriniemi M, Prokunina-Olsson L, Johanneson B, Collins FS, Stanford JL *et al.* Evaluation of a variant in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and prostate cancer risk in a population-based study. *Prostate* 2008; 68(7):740–7.
- Sen M, Chamorro M, Reifert J, Corr M, Carson DA. Blockade of Wnt-5A/frizzled 5 signaling inhibits rheumatoid synovial cell activation. *Arthritis Rheum* 2001; 44(4):772–81.

22. Yuasa T, Iwamoto ME. Mechanism of cartilage matrix remodeling by Wnt. *Clin Calcium* 2006; 16(6):1034–9.
23. Issack PS, Helfet DL, Lane JM. Role of Wnt signaling in bone remodeling and repair. *HSS J* 2008; 4(1):66–70.
24. Finckh A. Early inflammatory arthritis versus rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21(2):118–23.
25. Graudal N. The natural history and prognosis of rheumatoid arthritis: association of radiographic outcome with process variables, joint motion and immune proteins. *Scand J Rheumatol Suppl* 2004; 118:1–38.
26. Rabelo FS, Mota LMH, Lima RA, Lima FA, Barra GB, Carvalho JF *et al.* The Wnt signaling pathway and rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2010; 9(4):207–10.
27. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 1991; 10(4):506–13.
28. Dutra LA, Costa PG, Velasco LF, Amato AA, Barra GB. Allele-specific PCR assay to genotype SNP rs7903146 in TCF7L2 gene for rapid screening of diabetes susceptibility. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008; 52(8):1362–6.
29. Kirkwood BR, Sterne JAC. *Essential medical statistics*. 2nd ed. Blackwell Science: Massachusetts, USA, 2006; p.502.
30. Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. *Applied Linear Statistical Models*. 4th. ed. Illinois: McGraw-Hill, 1996.
31. Chang YC, Chang TJ, Jiang YD, Kuo SS, Lee KC, Chiu KC, Chuang LM. Association study of the genetic polymorphisms of the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and type 2 diabetes in the Chinese population. *Diabetes* 2007; 56(10):2631–7.