



Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Instituto Biomédico  
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

**ESTUDO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS, VARIÁVEIS  
ANTROPOMÉTRICAS, PRESSÓRICAS E BIOQUÍMICAS ASSOCIADAS  
AO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE  
NO RIO DE JANEIRO**

**Danielle Dutra Voigt**

Orientador: Prof. Dr. Pedro Hernan Cabello Acero

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Verônica Marques Zembrzuski

Rio de Janeiro

2014

**Danielle Dutra Voigt**

**ESTUDOS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS, VARIÁVEIS  
ANTROPOMÉTRICAS, PRESSÓRICAS E BIOQUÍMICAS ASSOCIADAS  
AO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE  
NO RIO DE JANEIRO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Hernan Cabello Acero

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Verônica Marques Zembrzuski

Rio de Janeiro

2014

Voigt, Danielle Dutra

Estudo de polimorfismos genéticos, variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas associadas ao desenvolvimento da obesidade no Rio de Janeiro. – 2014.

133 f.: il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGGBM).

1. Obesidade. 2. Polimorfismos. 3. *FTO*. 4. *MC4R*. 5. *PPARG*. 6. *ADRB3*. 7. *UCP1* 8. *LEPR*.

I. Cabello, Pedro Hernan. II. Zembrzuski, Verônica Marques. III. Título.

UNIRIO

**Danielle Dutra Voigt**

**ESTUDOS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS, VARIÁVEIS  
ANTROPOMÉTRICAS, PRESSÓRICAS E BIOQUÍMICAS ASSOCIADAS  
AO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE  
NO RIO DE JANEIRO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora:

Dr. Fernando Vargas (UNIRIO/FIOCRUZ)  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro e Fundação Oswaldo Cruz

Dr<sup>a</sup>. Márcia Pimentel (UERJ)  
Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Dr<sup>a</sup>. Vivianne Galante Ramos (UNIGRANRIO/ FIOCRUZ)  
Universidade do Grande Rio e Fundação Oswaldo Cruz

Dr. Pedro Hernan Cabello (UNIGRANRIO/ FIOCRUZ)  
Universidade do Grande Rio e Fundação Oswaldo Cruz

*Aos meus pais, Sergio e Luzia, meu  
namorado Bruno, amigos e familiares.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pelas oportunidades e por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho e me dar forças para seguir em frente.

À Universidade do Grande Rio, especialmente ao laboratório de Genética (LabGen), pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao meu orientador Pedro Cabello, pela sua orientação, ensinamentos, amizade, por me confiar e me conceder a oportunidade de concluir mais uma etapa, e ser essa pessoa tão especial e exemplo de profissional.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Verônica Zembruski pela dedicação, amizade, por ampliar meus conhecimentos e me ajudar nas horas de dificuldade.

Ao Dr. Emílio Francischetti e Dr<sup>a</sup>. Virgínia Genelhu pela colaboração.

Ao laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX/UERJ), pela captação das amostras.

À Dr<sup>a</sup> Joelma Freire por revisar a minha tese.

À Vivianne, pela amizade e por me fazer acreditar no meu potencial e ser essa amiga doce e com um coração gigante.

Aos estagiários Bruno, Tamara, Rafaella, Kalec, Keith, Carolina, Thiago, pelo auxílio e momentos de descontração.

À funcionária Ana Beatriz pela amizade e alto astral diário.

À Ana Carolina, do Laboratório de Genética da Fiocruz, por ser uma amiga especial, me incentivar desde o início dessa jornada, onde começamos juntas.

Ao meu namorado Bruno pelo amor, companheirismo, incentivo, compreensão, mesmo acompanhando tudo de longe, sempre presente em todos os momentos que passamos juntos.

Aos meus pais, Sérgio e Luzia, pela confiança que sempre depositaram em mim, por acreditarem na minha capacidade, me apoiarem em todos os momentos que precisei, por serem indispensáveis na minha vida e pelo amor em todos os momentos.

E à minha família e amigos pela torcida e apoio durante essa difícil caminhada.

“Se enxerguei mais longe, foi porque estava  
sobre os ombros de gigantes”.

***Isaac Newton***

## RESUMO

O excesso de peso e a obesidade têm alcançado proporções epidêmicas em todo o mundo, sendo considerado um problema de saúde pública. A obesidade é causada por uma disfunção do balanço energético, levando ao desenvolvimento de patologias crônicas como doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes mellitus tipo II, câncer, e outras comorbidades. Diversos estudos têm demonstrado que além do ambiente, a genética também contribui para obesidade, entretanto, estes fatores não são totalmente esclarecidos. O objetivo principal desse trabalho foi avaliar o efeito de doze polimorfismos de seis genes envolvidos na homeostase energética (*FTO*, *MC4R*, *PPARG*, *ADRB3*, *UCP1* e *LEPR*). Isto foi feito através de um estudo comparativo entre 100 indivíduos eutróficos e 100 obesos, amostrados na população do Rio de Janeiro, Brasil. Todos os indivíduos avaliados se encontravam em uma faixa etária de 18 a 60 anos, tendo os indivíduos eutróficos um índice de massa corporal de  $\geq 18,5$  kg/m<sup>2</sup> a  $< 25$  kg/m<sup>2</sup> e os obesos  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. Os indivíduos foram submetidos a uma avaliação clínica-antropométrica e bioquímica, realizada no Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental. Clínica de Hipertensão - CLINEX/UERJ e a análise molecular no Laboratório de Genética - LABGEN/Unigranrio. As genotipagens dos polimorfismos estudados foram feitas através das técnicas de PCR-RFLP e PCR em Tempo Real. As principais análises deste trabalho mostraram que a circunferência da cintura (CC), razão cintura/quadril (RCQ), diâmetro abdominal sagital (DAS), pressão arterial (PA), triglicerídeos, colesterol LDL e leptina estão aumentados em obesos, enquanto que o colesterol HDL foi significativamente maior em eutróficos; na comparação entre os sexos, a CC, RCQ, DAS, PAS e triglicerídeos foi significativamente maior entre os homens, enquanto que nas mulheres somente o colesterol e a leptina apresentaram níveis significativamente superiores. Na comparação entre os indivíduos com diferentes graus de adiposidade, observamos um aumento progressivo significativo da CC, DAS e leptina. Em relação às análises moleculares do gene *FTO*, observamos que indivíduos com o genótipo TT do polimorfismo rs9939609 apresentaram um aumento significativo nos níveis de triglicerídeos e indivíduos com genótipos TT e GG dos polimorfismos rs17817449 e rs1121980, respectivamente, apresentaram aumentos significantes nos níveis de colesterol total e LDL. No gene *MC4R*, os indivíduos com genótipo CC do polimorfismo 17782313 apresentaram também uma associação positiva significativa com o colesterol total e LDL. Para o polimorfismo rs6536991 do gene *UCP1* observou-se um aumento significativo da circunferência da cintura tanto para obesos como para eutróficos com genótipo TT e CC, respectivamente, e um aumento do DAS, colesterol total e LDL apenas em eutróficos com genótipo CC. Aumentos significativos do IMC e dos níveis plasmáticos de leptina foram observados em indivíduos portadores do alelo G do polimorfismo rs1801282 (gene *PPARG*), e aumentos significativos do IMC, RCQ, DAS, PAS e PAM em indivíduos portadores do alelo G no polimorfismo rs1137101 do gene *LEPR*. Podemos concluir que a análise de polimorfismos genéticos, comparando eutróficos e obesos não detecta diferenças significantes, porém os efeitos desses polimorfismos podem ser observados sobre características fenotípicas indicadoras ou marcadores da obesidade.

**Palavras - chave:** polimorfismos, obesidade, *FTO*, *MC4R*, *PPARG*, *ADRB3*, *UCP1*, *LEPR*.



## ABSTRACT

Overweight and obesity has reached epidemic proportions across the globe and therefore is considered a major health hazard. Obesity causes a disorder of energy balance, leading to the development of chronic diseases such as cardiovascular disease, hypertension, type II diabetes mellitus, cancer, and other comorbidities. Several studies have shown that besides the environment, genetics also contributes to obesity, however, these factors are not fully understood. The main objective of this study was to evaluate the effect of twelve polymorphisms of six genes involved in energy homeostasis (*FTO*, *MC4R*, *PPARG*, *ADRB3*, *UCP1* and *LEPR*). This was done through a comparative study of 100 obese and 100 normal individuals, sampled in Rio de Janeiro, Brazil. All of the evaluated participants were between 18 and 60 years old. Normal-weight participants had a body mass index (BMI)  $\geq 18.5$  kg/m<sup>2</sup> and  $<25$  kg/m<sup>2</sup>, and obese participants had a BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. All participants underwent a clinical-biochemical and anthropometric assessment conducted in the Clinical and Experimental Pathophysiology Laboratory. Hypertension Clinic - CLINEX/UERJ, as well as a molecular analysis in the Laboratory of Genetics - LABGEN/Unigranrio. The genotyping of the studied polymorphisms was made using PCR-RFLP and Real-Time PCR. The data show that waist circumference (WC), waist/hip ratio (WHR), sagittal abdominal diameter (SAD), systolic blood pressure (SBP), triglycerides, LDL cholesterol, and leptin are higher in obese individuals, whereas HDL cholesterol is significantly higher in normal weight individuals. When comparing the sexes, WC, WHR, SAD, SBP and triglycerides are significantly higher in men. In women, however, cholesterol and leptin levels are significantly higher. When comparing individuals with different degrees of adiposity, there is a significant, progressive increase in WC, SAD, and leptin. Regarding the molecular analysis of the *FTO* gene, individuals with the TT genotype of the rs9939609 polymorphism show a significant increase in triglyceride levels; additionally, individuals with genotypes TT and GG of the polymorphisms rs17817449 and rs1121980, respectively, show a significant increase in total cholesterol and LDL levels. Individuals with CC genotype of the polymorphism rs17782313 also show a significant positive association with total and LDL cholesterol in the *MC4R* gene. For the rs6536991 polymorphism in the *UCP1* gene, there is a significant increase in WC for both normal-weight and obese individuals with the CC and TT genotypes, respectively. Increased SAD, total cholesterol, and LDL were observed only in the eutrophic CC genotype. Significant increases in BMI and plasma leptin levels were observed in subjects bearing the G allele of the rs1801282 polymorphism (gene *PPARG*), and significant increases in BMI, WHR, SAD, SBP, and mean blood pressure (MBP) were observed in individuals bearing the G allele of the rs1137101 polymorphism in the *LEPR* gene. Ultimately, the analysis comparing genetic polymorphisms of obese and normal-weight individuals did not reveal significant differences, but the effects of these polymorphisms can be observed on phenotypic characteristics indicators or markers of obesity.

**Keywords:** polymorphism, obesity, *FTO*, *MC4R*, *PPARG*, *ADRB3*, *UCP1*, *LEPR*

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Distribuição Periférica (ginecóide) e abdominal (andróide) da gordura corporal.....	3
<b>Figura 2:</b>	Regulação neurológica do balanço energético.....	9
<b>Figura 3:</b>	Mapa genético da obesidade.....	13
<b>Figura 4:</b>	Gene <i>PPARG</i> e as proteínas PPAR- $\gamma$ 1 e PPAR- $\gamma$ 2.....	17
<b>Figura 5:</b>	Fotografia de um gel de agarose do polimorfismo rs1801282 após a clivagem com a endonuclease de restrição <i>BstU-I</i> .....	29
<b>Figura 6:</b>	Fotografia de um gel de agarose do polimorfismo rs4994 após a clivagem com a endonuclease de restrição <i>BstNI</i> .....	30
<b>Figura 7:</b>	Fotografia de um gel de agarose do polimorfismo rs2229616 após a clivagem com a endonuclease de restrição <i>HincII</i> .....	31
<b>Figura 8:</b>	Gráficos Multicomponentes.....	32

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Classificação internacional de adultos de acordo com o índice de massa corporal (IMC).....	2
<b>Tabela 2:</b>	Ponto de corte dos riscos de complicações metabólicas associadas à obesidade em homens e mulheres caucasoides.....	4
<b>Tabela 3:</b>	Referência do ponto de corte da circunferência de cintura de acordo com a <i>International Diabetes Federation (IDF)</i> .....	4
<b>Tabela 4:</b>	Função proposta das proteínas desacopladoras (UCPs).....	20
<b>Tabela 5:</b>	Polimorfismos genotipados por <i>PCR-RFLP</i> .....	28
<b>Tabela 6:</b>	Sondas e condições de amplificação dos SNPs estudados por PCR em tempo real.....	33
<b>Tabela 7:</b>	Exemplo de recodificação dos genótipos.....	36
<b>Tabela 8:</b>	Análise comparativa das variáveis quantitativas para Obesos e Eutróficos.....	38
<b>Tabela 9:</b>	Análise comparativa das variáveis quantitativas entre os sexos.....	39
<b>Tabela 10:</b>	Análise comparativa das variáveis quantitativas entre obesos por grau de adiposidade.....	40
<b>Tabela 11:</b>	Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene <i>FTO</i> .....	41
<b>Tabela 12:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs9939609 do gene <i>FTO</i> em eutróficos e obesos.....	43
<b>Tabela 13:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs1121980 do gene <i>FTO</i> em eutróficos e obesos.....	45
<b>Tabela 14:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs17817449 do gene <i>FTO</i> em eutróficos e obesos.....	47
<b>Tabela 15:</b>	Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene <i>MC4R</i> .....	49

<b>Tabela 16:</b>	Comparação das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos e eutróficos para o polimorfismo rs17782313 do gene <i>MC4R</i> .....	51
<b>Tabela 17:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs17782313 do gene <i>MC4R</i> em eutróficos e obesos.....	53
<b>Tabela 18:</b>	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs1801282 no gene <i>PPARG</i> .....	55
<b>Tabela 19:</b>	Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs4994 do gene <i>ADRB3</i> .....	56
<b>Tabela 20:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao rs4994 do gene <i>ADRB3</i> em eutróficos e obesos.....	57
<b>Tabela 21:</b>	Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene <i>UCP1</i> .....	59
<b>Tabela 22:</b>	Comparação das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos e eutróficos para o polimorfismo rs6536991 do gene <i>UCP1</i> .....	61
<b>Tabela 23:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs6536991 do gene <i>UCP1</i> em eutróficos e obesos.....	63
<b>Tabela 24:</b>	Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene <i>LEPR</i> .....	67
<b>Tabela 25:</b>	Comparação das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos e eutróficos para o polimorfismo rs1137101 do gene <i>LEPR</i> .....	69
<b>Tabela 26:</b>	Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo 1137101 do gene <i>LEPR</i> em eutróficos e obesos.....	71
<b>Tabela 27:</b>	Modelo final de regressão múltipla para IMC com todas as variáveis.....	73
<b>Tabela 28:</b>	Coeficiente de regressão do modelo final para IMC com todas as variáveis.....	74
<b>Tabela 29:</b>	Modelo final de regressão múltipla do IMC em polimorfismos.....	74
<b>Tabela 30:</b>	Coeficiente de regressão do modelo final para Índice de Massa Corporal sobre polimorfismos.....	75
<b>Tabela 31:</b>	Resumo das Análises das relações entre as variáveis quantitativas através de regressões múltiplas.....	76
<b>Tabela 32:</b>	Resumo dos resultados das regressões múltiplas efetuadas para os polimorfismos.....	78

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs9939609 ( <i>FTO</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para triglicerídeos.....	44
<b>Gráfico 2:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs1121980 ( <i>FTO</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol total.....	46
<b>Gráfico 3:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs1121980 ( <i>FTO</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol LDL.....	46
<b>Gráfico 4:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs17817449 ( <i>FTO</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol total.....	48
<b>Gráfico 5:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs17817449 ( <i>FTO</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol LDL.....	48
<b>Gráfico 6:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs17782313 ( <i>MC4R</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol total.....	54
<b>Gráfico 7:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs17782313 ( <i>MC4R</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol LDL.....	54
<b>Gráfico 8:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs1801282 ( <i>ADRB3</i> ) nos grupos eutróficos e obesos para leptina.....	58
<b>Gráfico 9:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 ( <i>LEPR</i> ) no grupo de obesos para circunferência da cintura.....	64
<b>Gráfico 10:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 ( <i>UCP1</i> ) no grupo eutróficos diâmetro abdominal sagital.....	64
<b>Gráfico 11:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 ( <i>UCP1</i> ) no grupo eutróficos colesterol total.....	65
<b>Gráfico 12:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 ( <i>UCP1</i> ) no grupo eutróficos colesterol LDL.....	65
<b>Gráfico 13:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs1127301 ( <i>LEPR</i> ) no grupo de obesos para pressão arterial diastólica.....	72
<b>Gráfico 14:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs1127301 ( <i>LEPR</i> ) no grupo de obesos para pressão arterial média.....	72
<b>Gráfico 15:</b>	Distribuição genotípica do polimorfismo rs1127301 ( <i>LEPR</i> ) no grupo de obesos para pressão arterial sistólica.....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>μl</b>	Microlitros
<b>AC</b>	Adenilato ciclase
<b>ACTH</b>	Hormônios Adrenocorticotróficos
<b>ADRB3</b>	Gene receptor β3 adrenérgico
<b>ADRB3</b>	Receptor beta 3 adrenérgico
<b>AgPR</b>	Proteína Agouti
<b>cAMP</b>	AMP-cíclico
<b>CART</b>	Transcrito regulador de cocaína anfetamina
<b>CC</b>	Circunferência da cintura
<b>Clinex</b>	Laboratório de Clínica de Hipertensão – UERJ
<b>DAS</b>	Diâmetro abdominal sagital
<b>DMT2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético
<b>FAM</b>	Fluoróforo
<b>FTO</b>	Gene associado à massa de gordura e obesidade
<b>γ-MSH</b>	Hormônios gama estimuladores de melanócito
<b>HDL</b>	Colesterol da lipoproteína de alta densidade
<b>HW</b>	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corporal
<b>JAK</b>	Janus tirosina quinase
<b>kDa</b>	KiloDaltons

<b>Kg</b>	Kilograma
<b>LabGen</b>	Laboratório de Genética - UNIGRANRIO
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LDL</b>	Colesterol da lipoproteína de baixa densidade
<b>LEPR</b>	Gene receptor de leptina
<b>LEPR</b>	Proteína receptora de leptina
<b>MC4R</b>	Gene receptor de melanocortina 4
<b>MCRs</b>	Receptores de Melanocortina
<b>mL</b>	Mililitro
<b>Ng</b>	Nanogramas
<b>NHANES</b>	<i>National Center for Health Statistics</i>
<b>NPY</b>	Neuropeptídio Y
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PAD</b>	Pressão arterial diastólica
<b>PAM</b>	Pressão arterial média
<b>PAS</b>	Pressão arterial sistólica
<b>pb</b>	Pares de base
<b>PC1</b>	Convertase 1
<b>PC2</b>	Convertase 2
<b>PCR</b>	Reação da Cadeia da Polimerase
<b>Pmoles</b>	Picomoles
<b>POF</b>	Pesquisa de Orçamentos Familiar
<b>POMC</b>	Pró-opiomelanocortina
<b>PPARG</b>	Gene receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
<b>RCQ</b>	Razão cintura-quadril
<b>RFLP</b>	<i>Restriction Fragments Length polymorphisms</i>
<b>RNA<sub>m</sub></b>	RNA mensageiro

<b>SNP</b>	Polimorfismo de um único nucleotídeo
<b>TAB</b>	Tecido Adiposo Branco
<b>TAM</b>	Tecido Adiposo Marrom
<b>U</b>	Unidade
<b>UCP1</b>	Proteína desacopladora I
<b>UCPI</b>	Gene da proteína desacopladora I
<b>VIC</b>	Fluoróforo
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b><math>\alpha</math>-MSH</b>	Hormônios alfa estimuladores de melanócito
<b><math>\beta</math>-ARs</b>	Beta adrenérgicos
<b><math>\beta</math>-MSH</b>	Hormônios beta estimuladores de melanócito



## SUMÁRIO

<b>I.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
I.1.	Definição e caracterização da Obesidade.....	1
I.2.	A obesidade como um problema de saúde pública.....	5
I.3.	Fisiologia da Regulação corporal.....	6
I.3.1.	Tecido Adiposo.....	6
I.3.2.	Regulação da homeostase energética.....	8
I.4.	Classificação da Obesidade Segundo a etiologia.....	10
I.4.1.	Obesidade Síndrômica.....	10
I.4.2.	Obesidade Monogênica.....	10
I.4.3.	Obesidade Poligênica ou comum.....	11
1.5	Genes Candidatos.....	12
I.5.1.	<i>FTO (gene associado à massa gorda e obesidade)</i> .....	14
I.5.2.	<i>MC4R (receptor 4 da melanocortina)</i> .....	15
I.5.3.	<i>PPARG(receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama)</i> .....	16
I.5.4.	<i>ADRB3 (receptor beta 3 adrenérgico)</i> .....	18
I.5.5.	<i>UCP1 (proteína desacopladora 1)</i> .....	19
I.5.6.	<i>LEPR (receptor de Leptina)</i> .....	21
<b>II.</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>23</b>
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
III.1.	Objetivo geral.....	24
III.2.	Objetivos específicos.....	24
<b>IV.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>25</b>
IV.1.	Casuística.....	25
IV.1.1.	Critérios de inclusão.....	25
IV.1.2.	Critérios de exclusão.....	26

IV.2.	Avaliação clínica.....	26
IV.3.	Coleta de sangue periférico.....	27
IV.3.1.	Extração do DNA Genômico.....	27
IV.3.2.	Avaliação Genético-molecular.....	27
IV.3.2.1.	<i>RFLP-PCR (Restriction Fragments Length polymorphisms)</i> .....	27
IV.3.2.1.1.	Polimorfismo rs1801282 do gene <i>PPARG</i> .....	28
IV.3.2.1.2.	Polimorfismo rs4994 do gene <i>ADRB3</i> .....	29
IV.3.2.1.3.	Polimorfismo rs2229616 do gene <i>MC4R</i> .....	31
IV.3.2.2.	PCR em Tempo Real.....	32
IV.4.	Análise Estatística.....	34
IV.4.1.	Análise Multivariada.....	34
<b>V.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	37
V.1.	Análise Descritiva.....	37
V.2.	Análise Genética.....	40
V.2.1.	Gene <i>FTO</i> .....	41
V.2.1.1.	Análise de frequências e distribuição genotípica.....	41
V.2.1.2.	Efeito dos polimorfismos rs9939609, rs1121980 e rs17817449 do gene <i>FTO</i> sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos.....	42
V.2.2.	Gene <i>MC4R</i> .....	49
V.2.2.1.	Análise de frequências e distribuição genotípica.....	49
V.2.2.2.	Efeito dos polimorfismos rs2229616 e rs17782313 do gene <i>MC4R</i> sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos.....	50
V.2.3.	Gene <i>PPARG</i> .....	55
V.2.3.1.	Análise de frequências e distribuição genotípica.....	55
V.2.3.2.	Efeito do polimorfismo rs1801282 do gene <i>PPARG</i> sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos.....	55

V.2.4.	Gene <i>ADRB3</i> .....	56
V.2.4.1.	Análise de frequências e distribuição genotípica.....	56
V.2.4.2.	Efeito do polimorfismo rs4994 do gene <i>ADRB3</i> sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos.....	56
V.2.5.	Gene <i>UCP1</i> .....	58
V.2.5.1.	Análise de frequências e distribuição genotípica.....	58
V.2.5.2.	Efeito dos polimorfismos rs12502572 e rs6536991 do gene <i>UCP1</i> sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos.....	59
V.2.6.	Gene <i>LEPR</i> .....	66
V.2.6.1.	Análise de frequências e distribuição genotípica.....	66
V.2.6.2.	Efeito dos polimorfismos rs1805094, rs1137100 e rs1137101 do gene <i>LEPR</i> sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos.....	68
V.3.	Análise Multivariada.....	73
V.3.1.	Análise do Índice de Massa Corporal (IMC).....	73
V.3.2.	Efeito dos polimorfismos genéticos sobre o IMC.....	74
<b>VI.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>79</b>
VI.1.	Gene <i>FTO</i> .....	80
VI.2.	Gene <i>MC4R</i> .....	83
VI.3.	Gene <i>PPARG</i> .....	85
VI.4.	Gene <i>ADRB3</i> .....	87
VI.5.	Gene <i>UCP1</i> .....	88
VI.6.	Gene <i>LEPR</i> .....	89
VI.7.	Análise multivariada.....	92
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>94</b>
<b>VIII.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>96</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>119</b>

# I. INTRODUÇÃO

## I.1. Definição e caracterização de Obesidade

A obesidade é um estado patológico definido pelo excesso de tecido adiposo acompanhado de ganho de peso, sendo caracterizada por uma heterogeneidade fenotípica. Esta patologia ocorre devido a uma disfunção crônica do balanço energético causando um desequilíbrio constante entre o consumo de alimento e o gasto de energia. É o resultado de mudanças associadas com a sociedade moderna, incluindo a ingestão de alimentos de alto teor calórico e o estilo de vida sedentário (Spiegelman & Flier 2001; Mutch & Clément 2006; Lee & Mattson, 2014).

Assim, a obesidade é uma doença complexa e multifatorial constituindo um problema mundial de saúde pública, afetando tanto países desenvolvidos quanto países em desenvolvimento. Ela acomete uma grande proporção de indivíduos e está relacionada com o aumento de inúmeras doenças crônicas, chamadas de comorbidades, tais como, doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2), dislipidemias e alguns tipos de câncer, contribuindo para um aumento das taxas de mortalidade (Herrera & Lindgren, 2010; Hebebrand *et al.*, 2013, WHO, 2013).

Durante um longo período, procurou-se um padrão de avaliação que pudesse ser usado em todo o mundo para identificar clinicamente uma pessoa portadora de sobrepeso ou obesidade. Pela sua praticidade e baixo custo, o Índice de Massa Corpórea (IMC) ou Índice de Quetelet, é considerado o padrão de medida internacional para avaliar a obesidade em humanos (Tabela 1). Esse índice é calculado dividindo-se o peso do indivíduo, em quilogramas, pela altura, em metros, elevada ao quadrado ( $IMC = Kg/m^2$ ) (WHO, 1995; 2000; 2004).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a classificação do IMC de adultos é útil para identificar pessoas que possuem risco de morbidade e mortalidade devido à obesidade (WHO, 1995; 2000; 2004).

Tabela 1: Classificação internacional de adultos de acordo com o índice de massa corporal (IMC)

<b>Classificação</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Risco de comorbidades</b>
Baixo Peso	<18,50	Baixo
Peso Normal	18,5 – 24,9	Médio
Sobrepeso	≥25,0	Levemente aumentado
Pré- Obeso	25,0 – 29,9	Aumentado
Obeso	≥30,00	Moderado
Obeso classe I	30,0 – 34,9	Moderado
Obeso classe II	35,0 – 39,9	Grave
Obeso classe III	≥40,0	Muito grave*

\*Obesidade Mórbida

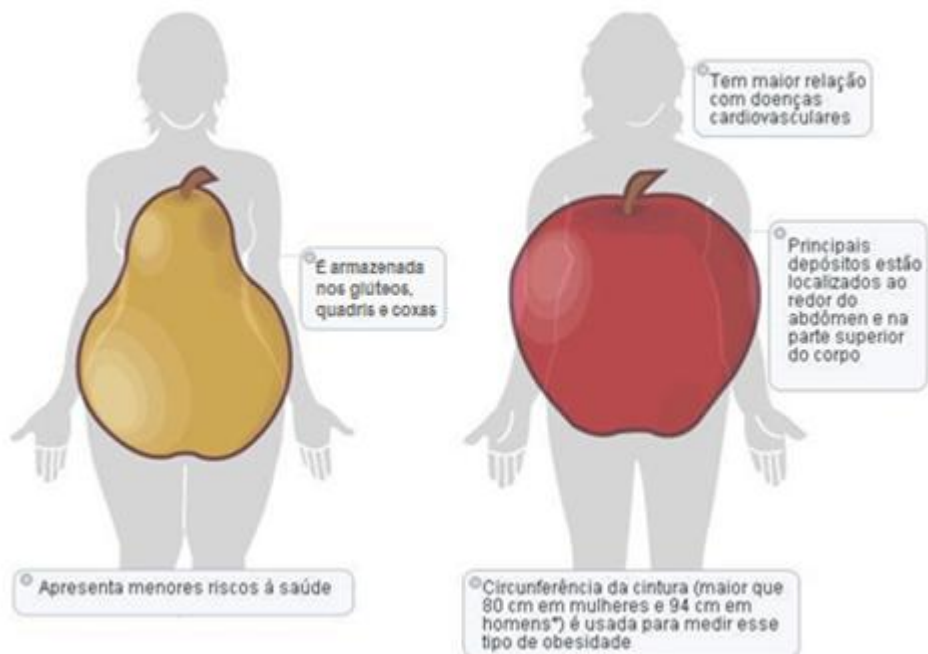
Fonte: Adaptado de WHO, 2004; ABESO, 2009.

Embora o IMC seja considerado o padrão internacional para avaliar a presença da obesidade, ele possui algumas limitações, já que não é capaz de avaliar a distribuição de gordura pelo corpo. Além disso, não consegue distinguir massa magra de massa gorda assim subestimando o grau de obesidade em indivíduos musculosos ou edemaciados (Pi-Sunyer, 2000; Mancini, 2001).

O padrão de distribuição da gordura corporal pode estabelecer um prognóstico de risco para a saúde. Tal padrão é classificado em dois tipos: andróide, central, abdominal ou maçã (*apple*) e ginecóide, periférico, inferior ou pera (figura1). O tipo andróide está relacionado ao excesso de gordura concentrado na região intra-abdominal ou no tronco, e é mais frequente no sexo masculino, porém, não exclusivo. Este padrão apresenta maior correlação com problemas cardiovasculares e metabólicos, por acumularem mais gordura visceral. O tipo ginecóide está associado ao excesso de gordura que se acumula na região dos quadris, coxas e nádegas, sendo esse mais frequente em mulheres e apresenta um menor risco à saúde, devido a um acúmulo subcutâneo. Em geral pode estar correlacionado com doenças vasculares mais leves e problemas ortopédicos (Mancini, 2001; Blouin *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2013).

### Pêra (ginecóide, periférica)

### Maçã (andróide, addominal)



**Figura 1:** Distribuição Periférica (ginecóide) e abdominal (andróide) da gordura corporal.

Fonte: Adaptado de Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo (Socesp) - Neto, 2014.

Além da classificação do IMC, outras mensurações antropométricas como a circunferência da cintura (CC), a razão cintura-quadril (RCQ) e diâmetro abdominal sagital (DAS) são comumente utilizadas para avaliar a distribuição da gordura corporal. Estas medidas estão associadas a doenças cardiovasculares, hipertensão, síndrome metabólica e DMT2, e são utilizadas de forma complementar ao IMC (Mancini, 2001; WHO, 2008). O IMC e a RCQ são empregados para avaliar com maior nitidez o risco de saúde dos pacientes. A avaliação destes parâmetros tem sido utilizada em pesquisas clínicas e estudos epidemiológicos, além disso, esses permitem realizar comparações dentro e entre populações e identificar indivíduos ou grupos que apresentem maior risco de morbidade e mortalidade (Kopelman, 2000). O aumento da CC também está frequentemente associado ao aumento do depósito de gordura visceral (Alberti *et al.*, 2009).

A obesidade abdominal é diagnosticada em mulheres que apresentam CC  $\geq 88$  cm e/ou RCQ  $\geq 0,85$  e em homens com CC  $\geq 102$  cm e/ou RCQ  $\geq 0,90$ . Os riscos dessas complicações são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2:** Ponto de corte dos riscos de complicações metabólicas associadas à obesidade em homens e mulheres

Riscos de complicações metabólicas	Homem	Mulher
<b>Circunferência da cintura (cm)</b>		
Normal	<94	<80
Aumentado	$\geq 94$	$\geq 80$
Substancialmente aumentado	$\geq 102$	$\geq 88$
<b>Razão cintura/quadril (cm)</b>		
Normal	<0,90	<0,85
Substancialmente aumentado	$\geq 0,90$	$\geq 0,85$

Fonte: Adaptado de WHO, 2008.

É importante compreender, que por mais que estas associações sejam universais e que tenham sido estabelecidas para avaliar o risco de saúde das populações, existem diversas predisposições de cada grupo étnico ou população específica. Em 2005 a *International Diabetes Federation (IDF)* sugeriu um ponto de corte para a circunferência da cintura que difere entre etnias (Tabela 3) (IDF, 2005; WHO, 2008).

**Tabela 3:** Referência do ponto de corte da circunferência de cintura de acordo com a *International Diabetes Federation (IDF)*

Grupo étnico	Sexo	Circunferência da cintura (cm)
Europeus	Homem	$\geq 94$
	Mulher	$\geq 80$
Sul-Asiáticos	Homem	$\geq 90$
	Mulher	$\geq 80$
Chineses	Homem	$\geq 90$
	Mulher	$\geq 80$
Japoneses	Homem	$\geq 85$
	Mulher	$\geq 90$
Centro e sul-americanos	Usar medidas sul-asiáticas até que estejam disponíveis referências específicas	
Africanos e sub-saarianos	Usar medidas europeias até que estejam disponíveis referências específicas	

Fonte: Adaptado de International Diabetes Federation - IDF, 2005.

## **I.2. A obesidade como um problema de saúde pública**

O aumento contínuo nas taxas de incidência de indivíduos com excesso de peso nas últimas décadas, fez com que a obesidade atingisse proporções epidêmicas, a ponto da OMS considerá-la uma epidemia global (WHO, 1995; 2000; 2004; Flegal *et al.*, 2002). Até 2015, as estimativas sugerem que haverá cerca de 2,3 bilhões de pessoas com excesso de peso e mais de 700 milhões de pessoas no mundo serão obesas (Chan & Woo, 2011; WHO, 2013). Isso deverá aumentar ainda mais nos próximos 20 a 30 anos (Ghoorah *et al.*, 2014).

A taxa de obesidade nos Estados Unidos tem apresentado um aumento constante segundo o *National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention* (NHANES). Nas duas últimas décadas, passou de 19,4% em 1997, para 35,7% da população adulta em 2010 (Xia & Grant, 2013). A obesidade afeta mais de 20% de todas as crianças em muitos países (Estados Unidos, Grã-Bretanha, Austrália, Brasil, Chile) (Cusi, 2012) e nos Estados Unidos estima-se que 170 milhões dessas (com menos de 18 anos de idade) apresentam sobrepeso ou obesidade (Xia & Grant, 2013).

Ao longo das últimas décadas, os países em desenvolvimento também têm observado um aumento da obesidade entre sua população (Hossain *et al.*, 2007).

No Brasil o panorama não é diferente, o que reforça a obesidade como sendo um problema tanto de países desenvolvidos, como em desenvolvimento. Alguns indicativos contribuem para este aumento: a facilidade no acesso de alimentos de baixo custo e de alto teor energético, o sedentarismo, trabalho centralizado nas cidades (êxodo rural) e o aumento da obesidade infantil, que quadriplicou entre crianças de 5 a 9 anos, chegando a uma média de 14% (16,6% em meninos e 11,8% em meninas) (IBGE, 2010). De acordo com dados do Ministério da Saúde, foi observado um aumento de 9,5% no número de adultos obesos no período de 1975 a 2009 (IBGE, 1982, 1992 e 2004; MS, 2011).

Segundo dados recentes das Pesquisas de Orçamentos Familiares (POF), realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mais de 50% da



população acima dos 20 anos tem excesso de peso, dos quais 12,4% dos homens e 16,9% das mulheres são obesos (IBGE, 2010; MS, 2011).

### **I.3. Fisiologia da regulação corporal**

#### **I.3.1 Tecido adiposo**

O tecido adiposo é um tipo de tecido conjuntivo de origem mesenquimal que possui em seu estroma diversos tipos de células, entre elas, os pré-adipócitos, adipócitos, fibroblastos, linfócitos, neutrófilos, macrófagos, células endoteliais e células-tronco mesenquimais (Cusi, 2012; Esteve Ràfols, 2014).

Histologica e funcionalmente, o tecido adiposo é dividido em dois tipos. Esta divisão, depende do estímulo que estas células recebem, podendo se dividir em: tecido adiposo branco (TAB) ou unilocular e tecido adiposo marrom (TAM) ou multilocular, ambos responsáveis por armazenar lipídios (Virtanen *et al.*, 2009; Saely, *et al.*, 2012; Adamczak & Wiecek., 2013). Recentemente, foi identificado um novo tipo de célula de gordura, nomeado como tecido adiposo “bege”, “brite” ou “células adiposas marrons recrutáveis” (Wu *et al.*, 2013).

Tinha-se uma visão do TAB como um depósito de lipídios, porém, em 1994, com a descoberta da leptina (Zhang *et al.*, 1994), esse conceito foi modificado, sendo estabelecido que o tal tecido, além de exercer a função de armazenamento de lipídios, contribui para o isolamento térmico de todo o corpo e também funciona como um órgão endócrino que produz uma importante fonte de substâncias biologicamente ativas, as adipocinas, que modulam o metabolismo de todo organismo. (Adamczak & Wiecek, 2013; Rosenwald & Wolfrum, 2014). Dentre as diversas adipocinas secretadas pelo TAB, podemos destacar a leptina, adiponectina, resistina, interleucinas 1 $\beta$ , 6 e 8 (IL-1 $\beta$ , -6 e -8), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), entre outras. (Queiroz *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2014).

O balanço energético é calculado pela ingestão e gasto energético; quando existe um excesso de energia, esse se acumula no TAB na forma de lipídios, e se existe baixa ingestão de energia, os lipídios são liberados para outros tecidos e utilizados para a geração de energia (Raucci *et al.*, 2013; Esteve Rafóls, 2014).

O tecido adiposo marrom foi descrito pela primeira vez em pequenos mamíferos e crianças, sendo uma adaptação para se proteger contra o frio (Cannon & Nedergaard, 2004). Sua principal função é produzir calor e seu citoplasma é composto por uma elevada quantidade de mitocôndrias, reguladas pela proteína desacopladora 1 (UCP1) que participa da termogênese (Rosenwald & Wolfrum, 2014). Este tecido utiliza a energia química dos lipídios e da glicose para produzir calor através da via mitocondrial de fosforilação oxidativa de ácidos graxos, mediados pela UCP1 (Hassan *et al.*, 2012).

Além disso, o TAM tem uma relação inversa com o aumento da idade, ou seja, é abundante em recém-nascidos e em adultos apresenta uma distribuição preferencial (região cervical, supraclavicular, axilar, paravertebral, mediastino e regiões abdominais superiores). Essa distribuição parece servir como um facilitador para o fornecimento de sangue para os órgãos vitais (Saely *et al.*, 2012).

Recentemente, foi descoberto que os adipócitos marrons podem se apresentar intercalados no tecido adiposo branco de humanos e roedores, formando o tecido adiposo “bege”, sendo sugerido que existam dois tipos de adipócitos marrons, conhecidos como clássico, em crianças, e “bege” em adultos. Esse é metabolicamente ativo e apresenta respostas de termogênese similares ao TAM, porém proporcionam padrões de expressão gênica distintos do TAB e do TAM. (Hassan *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2014; Rosenwald & Wolfrum, 2014).

O tecido adiposo “bege” é morfológicamente semelhante ao tecido adiposo branco, pois apresenta uma baixa expressão basal de UCP1. No entanto, tal tecido responde a estímulos  $\beta$ -adrenérgicos, associados à AMP cíclico (cAMP), com uma alta expressão do gene *UCP1* e aumento nas taxas de respiração, atingindo níveis semelhantes aos observados no TAM clássico (Hassan *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2014).

Os estudos ainda não conseguem demonstrar se todos os adipócitos brancos poderiam ser transformados em “bege” ou se existe um conjunto preferencial de adipócitos que sofrem essa diferenciação, no entanto, sabe-se que as células “bege” fornecem meios flexíveis para regular a temperatura corporal e o balanço energético (Park *et al.*, 2014).

### **I.3.2. Regulação da homeostase energética**

A regulação do peso corporal depende de um eixo com três componentes inter-relacionados - ingestão alimentar, gasto energético e adipogênese - (Martínez-Hernandez *et al.*, 2007), que regulam a quantidade de energia consumida e armazenada no organismo, sendo este conjunto chamado de homeostase. Tudo isso se torna dependente da função normal do cérebro como regulador metabólico, o qual integra sinais periféricos e controla o comportamento alimentar autônomo (Martínez-Hernandez *et al.*, 2007; Lee & Mattson, 2014).

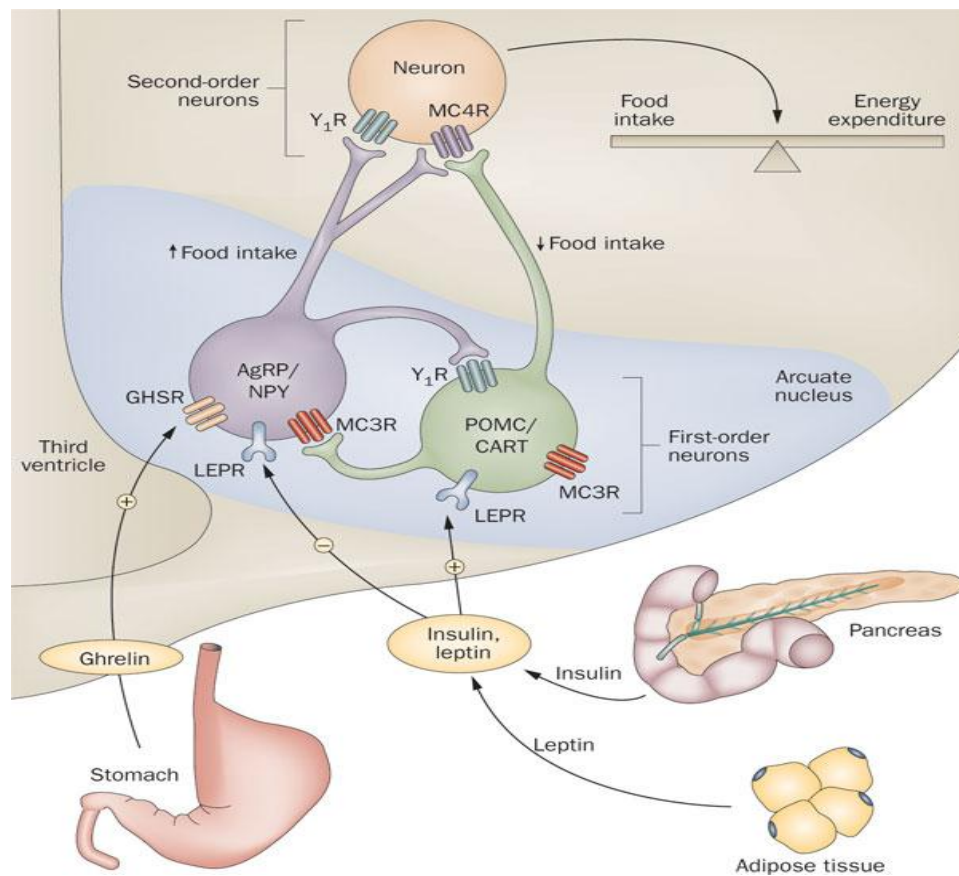
A descoberta da leptina foi um marco sobre a regulação do peso corporal, pois é um hormônio produzido pelos adipócitos e sua concentração plasmática está correlacionada ao teor de gordura corporal, que interage com receptores influenciando o balanço energético (Schwartz *et al.*, 2000). É transportada através da corrente sanguínea para o hipotálamo aumentando a pressão sanguínea por meio da ativação do sistema nervoso simpático (SNS) (Kaur, 2014).

O hipotálamo funciona como um regulador central desse sistema fisiológico complexo, que requer a integração de vários sinais periféricos, recebendo informações sobre o balanço energético através de sinais neuronais e hormonais que partem de regiões distintas dos núcleos hipotalâmicos, particularmente da porção ventro-medial, paraventricular e dos núcleos arqueados (Sobrinho Crespo *et al.*, 2014). O núcleo arqueado tem um papel fundamental nesse sistema complexo, uma vez que contém dois conjuntos de neurônios: o primeiro conjunto expressa a proteína relacionada à agoutina (AGRP) e o neuropeptídeo Y (NPY), e o segundo produz a pro-opiomelanocortina (POMC) e o transcrito relacionado à cocaína/anfetamina (CART). Os neuropeptídeos AGRP/NPY estão relacionados com a via orexígena, promovendo um aumento na ingestão de alimentos e reduzindo o gasto energético, já os neuropeptídeos POMC/CART produzem um efeito inverso, anorexígeno, diminuindo a ingestão de alimentos e aumentando o gasto energético (figura 2) (Bell *et al.*, 2005; Vetter *et al.*, 2010).

As melanocortinas são neuropeptídeos obtidos através da ação da proteína pró-opiomelanocortina (POMC), que é derivada de um processamento pós-tradução da

proteína POMC, através das convertases PC1 e PC2, e é expressa no núcleo arqueado do hipotálamo, hipófise e outros tecidos periféricos. Após a clivagem proteolítica da POMC, formam-se vários peptídeos agonistas, cujos produtos incluem os hormônios adrenocorticotróficos (ACTH) e os hormônios  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  estimuladores de melanócito (MSH) (Xiang *et al.*, 2010; Tao, 2010).

Embora existam muitas características desconhecidas relativas à homeostase e ao balanço energético, estudos que compreendem esse sistema complexo têm demonstrado os possíveis genes candidatos relacionados à obesidade, através de modelos animais e da investigação dos fatores genéticos (Bell *et al.*, 2005).



**Figura 2:** Regulação neurológica do balanço energético

(Fonte: Vetter *et al.*, 2010)

## **I.4. Classificação de obesidade segundo a etiologia**

A partir de diversos estudos epidemiológicos realizados em diferentes populações, como, por exemplo, estudos de gêmeos, concluiu-se que a obesidade é uma doença complexa, multifatorial, e que pode ser causada por fatores genéticos e ambientais, em particular naqueles indivíduos que já são geneticamente predispostos. Nem todos os indivíduos que vivem em um ambiente obesogênico desenvolvem esta patologia, o que destaca as suas condições multifatoriais (Loos, 2009; Hinney *et al.*, 2013); os fatores genéticos contribuem para 40-70% da variação interindividual na suscetibilidade à obesidade (Farooqi & O'Rahilly, 2005; Loos, 2009).

A obesidade, de acordo com a sua etiologia, pode ser classificada em três tipos: síndrome, monogênica e poligênica ou comum (Herrera & Lindgren, 2010; Shawky & Sadik, 2012).

### **I.4.1. Obesidade Síndrômica**

A obesidade síndrome se desenvolve através de defeitos genéticos discretos ou anormalidades cromossômicas. Além dos afetados serem clinicamente obesos, podem apresentar retardo mental, anormalidades no desenvolvimento de órgãos específicos e características dismórficas. A síndrome de Prader Willi (WPS) é a forma mais conhecida de obesidade síndrome de início precoce, devido a uma disfunção do sistema nervoso central (SNC), onde uma das causas é a hiperfagia. (Rankinen *et al.*, 2006; Herrera e Lindgren, 2010; Shawky e Sadik, 2012).

### **I.4.2. Obesidade Monogênica**

A maioria das mutações nos genes relacionados a esse tipo de obesidade está envolvida com a via da leptina-melanocortina no SNC, sendo essa essencial na regulação da homeostase, causando o acúmulo excessivo de gordura corporal, independente de fatores ambientais ou interações gênicas. Os principais genes envolvidos são: leptina (*LEP*), receptor de leptina (*LEPR*), pro-opiomelanocortina (*POMC*), pro-proteína subtilisina/kexina convertase tipo I (*PCSK1*), receptor da

melanocortina 3 (*MC3R*), receptor da melanocortina 4 (*MC4R*), entre outros (Farooqi & O'Rahilly, 2005; Pérusse *et al.*, 2005; Choquet & Meyre, 2010).

A forma de transmissão na obesidade monogênica pode ser dividida em dois tipos: autossômica recessiva ou dominante. A autossômica recessiva é causada por mutações raras que inativam os genes que codificam leptina (*LEP*), receptor da leptina (*LEPR*), proopiomelanocortina (*POMC*) e pro-proteína subtilisina/kexina convertase tipo I (*PCSK1*), resultando em um fenótipo grave de obesidade, que ocorre nos primeiros anos de vida e está relacionado a um excessivo consumo de energia em relação ao gasto energético (Bell *et al.*, 2005). As formas autossômicas dominantes mais frequentes são causadas por mutações nos genes que codificam a proteína *MC4R*, e a deficiência dessa representa a forma mais comum de obesidade monogênica (Bell *et al.*, 2005). A prevalência de tais mutações tem variado de 0,5% a 1% em adultos obesos a 6% em indivíduos com obesidade severa desde a infância (Farooqi & O'Rahilly, 2005).

#### **I.4.3. Obesidade Poligênica ou Comum**

A obesidade poligênica é uma doença cuja expressão pode ser modulada por inúmeros genes modificadores e por fatores ambientais, sem um padrão de herança mendeliana simples (Boutin & Froguel, 2001; Mutch & Clement, 2006; Walley *et al.*, 2009).

A maioria dos genes relacionados à obesidade comum podem ser considerados genes de suscetibilidade. Cada um contribui com pequenos efeitos, entretanto, quando agem em conjunto influenciam a expressão do fenótipo desta patologia. Em altas frequências, variantes nesses genes, podem ter uma ampla contribuição para a obesidade ao nível populacional (Nguyen & El-Serag, 2010).

Nota-se que a hereditariedade do peso corporal e a interação com os fatores ambientais, também podem ocorrer por um mecanismo distinto, o qual é conhecido como epigenética. Esse se define como um grupo de processos hereditários que afetam a função do gene, sem alterar a sequência primária de DNA (Bird, 2007).

Estudos sugerem que os efeitos epigenéticos são caracterizados principalmente pela metilação do DNA e acetilação de histonas que medeiam processos biológicos, como o *imprinting*. Deve-se notar que muitos desses genes “impressos” são fatores de crescimento ou reguladores da expressão do gene, podendo ser a obesidade uma característica, em parte, resultante desse mecanismo (Herrera *et al.*, 2011). No entanto, a conservação dessas marcas epigenéticas através de gerações é pouco compreendida e a noção de sua transmissão é controversa devido à dificuldade de discriminar a causa e o efeito para estas modificações no DNA (Herrera *et al.*, 2011; Burdge & Lillycrop, 2014).

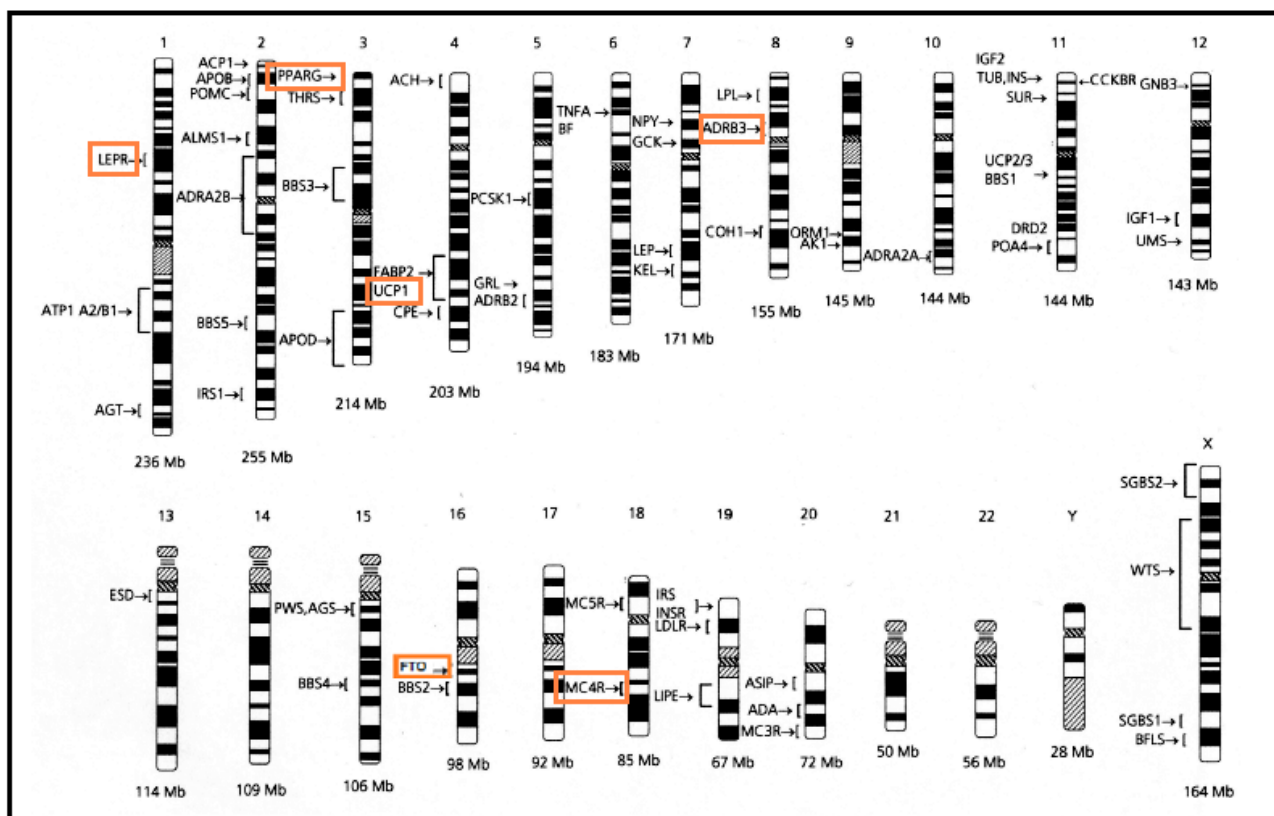
Deve-se incluir o conceito de “genótipos econômicos ou frugais” (*thrifty genotype*) às interações que ocorrem entre gene-ambiente. A hipótese de “gene-econômico” afirma que, devido à escassez alimentar, nossos genes sofreram processos evolutivos beneficiando os alelos que favoreciam o ganho de peso, e devido a esta circunstância, alguns indivíduos se tornaram mais propensos à obesidade (Neel, 1962). Os indivíduos com uma maior propensão a ter um comportamento compulsivo em um período de escassez, e que armazenavam de forma mais eficiente energia na forma de gordura, seriam os mais prováveis a sobreviverem aos períodos de fome.

Adicionalmente, devido a uma rápida globalização, essa vantagem seletiva se tornou uma desvantagem para os indivíduos que vivem em um ambiente obesogênico em conjunto com um estilo de vida moderno, pois estão mais predispostos ao ganho de peso. Portanto, apesar de muitos genes já terem sido identificados, resta desvendar a ligação fisiopatológica entre seu produto proteico e o desenvolvimento da doença (Friedman, 2003; Stefan & Nicholls, 2004).

## **I.5. Genes Candidatos**

O mapa genético da obesidade humana encontra-se em constante mudança, e a cada ano são identificados novos genes relacionados a esta patologia. Até o presente momento existem mais de 400 genes relatados como associados a essa desordem, porém muitos desses resultados ainda são controversos (Snyder *et al.*, 2004; Newell, 2007)

Em 2005, quando foi finalizada a última edição do “*Obesity Gene Map*”, 127 genes foram associados de alguma forma à obesidade e/ou a fenótipos relacionados. Da mesma forma os GWAS (*Genome Wide associations* - estudos de associação do genoma) identificaram mais de 120 genes associados, principalmente em populações europeias. Todos os cromossomos, exceto o Y, já foram associados com fenótipos relacionados ao aumento de peso (figura 3) (Rankinen *et al.*, 2006; León-Mimila *et al.*, 2013)



**Figura 3:** Mapa genético da obesidade humana.

(Fonte: Adaptado de Santos *et al.*, 2005)

Para o presente estudo foram selecionados seis genes candidatos à obesidade, envolvidos na homeostase energética (ingestão, consumo e gasto energético) e a escolha dos polimorfismos foi baseada principalmente na localização, na frequência e em suas análises em diferentes populações com resultados controversos.



### **1.5.1. Gene *FTO* (associado à massa gorda e obesidade)**

Inicialmente, o gene *FTO* foi descoberto em camundongos que apresentavam dedos unidos, e recebeu o nome de FT (*fused toes*). Este gene localiza-se no cromossomo 8 de camundongos, o qual é ortólogo ao cromossomo 16 nos humanos (Van der Hoeven *et al.*, 1994). Após a clonagem desse gene, percebeu-se que ele era muito extenso, e foi apelidado como *Fatso* (Peters *et al.*, 1999).

Somente com a descoberta da relação do gene com o acúmulo de gordura corporal é que ele passou a se chamar *FTO* (*fat mass and obesity gene*) (Fredriksson *et al.*, 2008).

O gene *FTO* é altamente expresso no hipotálamo e está envolvido na homeostase energética por meio do controle do gasto de energia (Fischer *et al.*, 2009). Está localizado no cromossomo 16q12.2 e apresenta 9 éxons que se estendem por mais de 400Kb. Os SNPs (Polimorfismo de um único nucleotídeo) associados com o IMC e a obesidade estão localizados no primeiro íntron, que abriga uma região altamente conservada (Garg *et al.*, 2014).

Sabe-se que este gene possui variantes que estão fortemente associadas à obesidade e estas desempenham um papel importante na manutenção da homeostase energética e na regulação da lipólise (Fredriksson *et al.*, 2008; Terra *et al.*, 2010). No entanto, a principal função dos produtos desse gene e sua via biológica ainda não foram totalmente elucidadas. Todavia, estudos com camundongos mostraram que os níveis de RNAm são regulados pela alimentação e pelo jejum, e a partir dessa observação sugeriu-se que o *FTO* seria um fator de transcrição que regularia a expressão de genes envolvidos no metabolismo, e o desequilíbrio desse processo poderia levar à obesidade (Cecil *et al.*, 2008; Terra *et al.*, 2010; Hess & Brunning, 2014). É também concebível que a atividade do *FTO* de desmetilação do DNA poderia regular a expressão de genes envolvidos no metabolismo e que a desregulação deste processo levaria à obesidade em um nível epigenético (Tung & Yeo, 2011).

Diversos estudos têm demonstrado que os polimorfismos no gene *FTO* apresentam fortes efeitos sobre a obesidade e fenótipos relacionados tais como CC, RCQ (Dina *et al.*, 2007; Hertel *et al.*, 2011), apresentando também efeitos sobre a

resistência à insulina e DMT2 (Dina *et al.*, 2007; Hertel *et al.*, 2011), síndrome metabólica (Hotta *et al.*, 2011) e alterações na pressão arterial (Pausova *et al.*, 2009).

Associações positivas foram encontradas em diversos estudos que correlacionaram o gene *FTO* com a obesidade em diferentes grupos étnicos, tais como: caucasóides (Dina *et al.*; 2007; Baturin *et al.*, 2014), asiáticos (Hotta *et al.*, 2008), indianos (Prakash *et al.*, 2011) e brasileiros (Da Silva *et al.*, 2013; Lourenço *et al.*, 2014). O polimorfismo mais frequente do gene *FTO* é o rs9939609 (A>T) e estudos demonstraram que os indivíduos homocigotos para o alelo de risco A apresentam um peso maior do que homocigotos para o alelo T (Frayling *et al.*, 2007; Woehning *et al.*, 2013). Aproximadamente 16% dos descendentes de populações europeias são homocigotos para o alelo de risco, pesando em média três a quatro quilogramas a mais do que aqueles que não possuem o alelo A (Frayling *et al.*, 2007; Church *et al.*, 2010).

Estudos têm identificado outros polimorfismos do gene *FTO* como, por exemplo, rs17817449 (G>T) e rs1121980 (A>G), que além de uma alta frequência estão associados com risco aumentado à obesidade (Dina *et al.*, 2007; Prakash *et al.*, 2011). Apesar de intensas discussões científicas em torno do papel do gene *FTO* no metabolismo energético, sua função ainda permanece indefinida (Osborne *et al.*, 2014).

### **1.5.2. Gene *MC4R* (Receptor 4 da melanocortina)**

As melanocortinas são reconhecidas por cinco receptores (MCRs), os quais são classificados como MC1R a MC5R, que estimulam a adenilato ciclase (cAMP) via transdução de sinais, e são amplamente distribuídos em tecidos periféricos e no sistema nervoso central (SNC) (Xiang *et al.*, 2010; Lee, 2012). Os efeitos biológicos da melanocortina são mediados através da interação com a família dos receptores associados à proteína G (Lee & Wardlaw, 2007).

O gene *MC4R* codifica o receptor de melanocortina 4, uma proteína de 332 aminoácidos codificada por um único éxon localizado no cromossomo 18q22 (Sundaramurthy *et al.*, 1998; Xi *et al.*, 2012). É um receptor transmembranar, acoplado a proteína G que atua por estimulação do hormônio endógeno  $\alpha$ -melanócito ( $\alpha$ -MSH), resultando na inibição da ingestão de alimentos. Devido a sua expressão hipotalâmica,

o *MC4R* desempenha um papel fundamental na regulação da homeostase energética e regulação do peso corporal (Yang *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, o gene *MC4R* tem recebido muita atenção, pois mutações nesse, podem causar a obesidade monogênica tanto em humanos quanto em animais (Santini *et al.*, 2009). Mutações no *MC4R* são a principal causa da obesidade monogênica grave com início precoce e fenótipos hiperfágicos. Em roedores, a expressão de *MC4R* foi confirmada na amígdala, hipotálamo, hipocampo, córtex e campo cerebral, porém em humanos, a distribuição de receptores de *MC4* no cérebro ainda não é conhecida (Loos *et al.*, 2008; Horstmann *et al.*, 2013).

Cerca de 160 mutações funcionalmente relevantes já foram detectadas em no gene *MC4R* em humanos (Hinney *et al.*, 2013). Em um estudo de GWAS, realizado com mais de 16 mil indivíduos, Loos e colaboradores identificaram o polimorfismo rs17782313 (T>C), localizado próximo ao gene *MC4R*, e este parece associado a um aumento de IMC, risco para a obesidade e resistência à insulina (Loos *et al.*, 2008; Chambers *et al.*, 2008). Este polimorfismo também pode estar relacionado com um aumento da ingestão energética total, principalmente de gorduras saturadas e um aumento da circunferência da cintura (Qi, *et al.*, 2008).

Outro polimorfismo que também está associado à obesidade é o rs2229616 (G>A), que resulta em uma substituição de um aminoácido valina por uma isoleucina na posição 103 da proteína (Val103Ile). Essa variante apresenta um efeito protetor contra a obesidade, relacionada com a diminuição do IMC e da CC (Heid *et al.*, 2008). Os indivíduos que apresentam o alelo A (Ile103) têm um risco reduzido de 18% no desenvolvimento da obesidade quando comparados com os indivíduos que não carregam este alelo (Young *et al.*, 2007).

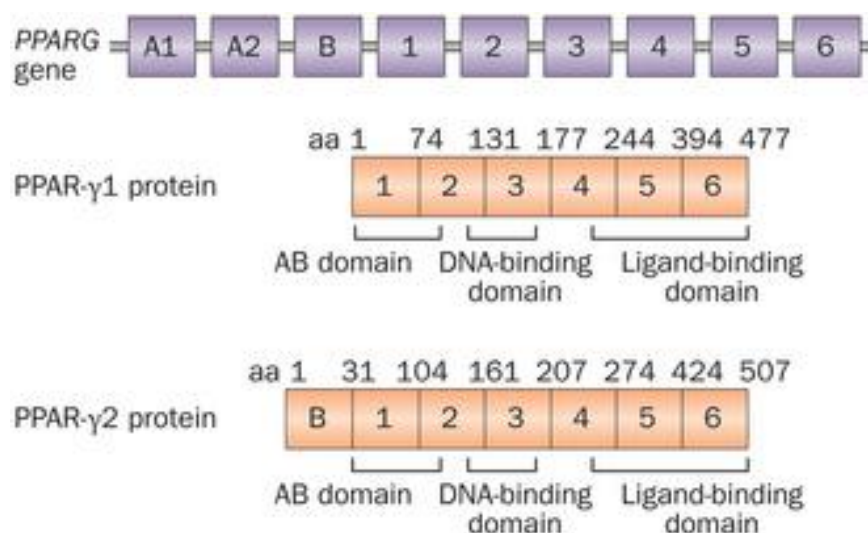
### **1.5.3. Gene *PPARG* (Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama)**

O gene *PPARG*, cujo produto é o fator de transcrição PPAR- $\gamma$  (receptores ativados por proliferadores de peroxissomas), é altamente expresso no tecido adiposo, onde controla a diferenciação dos adipócitos e o armazenamento de lipídios (Dongxia *et al.*, 2008).

O PPAR- $\gamma$  é um membro da subfamília de receptores nucleares, ativado pelos ácidos graxos provenientes da dieta e por derivados metabólicos (Evans *et al.*, 2004). É um fator chave de transcrição envolvida na adipogênese, essencial na formação de novos adipócitos (Braissant *et al.*, 1996; Rosen *et al.*, 2002). Em obesos mórbidos sua expressão está aumentada nos adipócitos e diminuída no tecido adiposo visceral de indivíduos magros (Vidal-Puig *et al.*, 1997; Lefebvre *et al.*, 1998)

O gene *PPARG* está localizado no cromossomo 3p25, possui 9 éxons e codifica três isoformas protéicas: PPAR- $\gamma$ 1, PPAR- $\gamma$ 2, e PPAR- $\gamma$ 3, que são produzidas por diferentes *splicing* alternativos, como pode ser observado na figura 4 (Aprile *et al.*, 2014).

O PPAR- $\gamma$ 2, codificado por 7 éxons do gene *PPARG*, é a isoforma mais importante expressa no tecido adiposo. Além disso, é um importante fator de transcrição ativado por lipídios, com um papel fundamental na expressão de genes envolvidos na diferenciação dos adipócitos, armazenamento de energia e na regulação de genes em outros tecidos (Mattevi *et al.*, 2007; Bhatt *et al.*, 2012).



**Figura 4:** Gene *PPARG* e as proteínas PPAR- $\gamma$ 1 e PPAR- $\gamma$ 2.

(Adaptado de Raman & Koenig, 2014)

Entre as diversas variantes gênicas identificadas no gene do *PPARG*, o polimorfismo rs1801282 (C>G), localizado no exon B, codifica o polipeptídeo amino-

terminal que define a isoforma PPAR- $\gamma$ 2, e isso resulta na substituição de um aminoácido prolina por alanina (Pro12Ala) (Yen *et al.*, 1997). Esse polimorfismo é amplamente estudado e tem sido associado ao aumento da gordura corporal, IMC (Tankó *et al.*, 2005; Mattevi *et al.*, 2007; Angeli, *et al.*, 2011), aumento no risco de diabetes *mellitus* (Ghoussaini *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2009), nos níveis glicêmicos (Zandoná *et al.*, 2013) e hipertensão arterial (Bener *et al.*, 2013).

#### **1.5.4. Gene ADRB3 (Receptor beta 3 adrenérgico)**

O sistema adrenérgico é uma peça fundamental no balanço energético, através da estimulação tanto da termogênese quanto da glicólise em tecido adiposo marrom e branco (Arch *et al.*, 1993; Lafontan & Berlan, 1993; Kurokawa *et al.*, 2008).

Os receptores beta-adrenérgicos ( $\beta$ -ARs) são membros de receptores ligados à proteína G, alvos das catecolaminas (epinefrina e norepinefrina), e são importantes para a regulação cardiovascular e metabólica. Esses receptores  $\beta$ -adrenérgicos são subdivididos em quatro subtipos:  $\beta$ 1 à  $\beta$ 4.  $\beta$ 1 e  $\beta$ 4 são expressos no sistema cardiovascular;  $\beta$ 2 é expresso nos músculos lisos das vias aéreas (Cagliani *et al.*, 2009).

O receptor  $\beta$ 3 está localizado principalmente nos adipócitos (Lafontan & Berlan, 1993; Tchernof *et al.*, 1999). Sua principal função é mediar a lipólise no tecido adiposo branco e a termogênese no tecido adiposo marrom (Umekae, 1999; Arch *et al.*, 1993; Kurokawa *et al.*, 2008). Uma disfunção neste receptor pode resultar em uma predisposição para a lipólise diminuída, resultando em obesidade (Oguri *et al.*, 2013).

O gene *ADRB3* está localizado no cromossomo 8p11.23, e é composto por dois éxons, separados por um pequeno íntron. Um dos polimorfismos mais estudados no gene *ADRB3* (rs4994 C>T) é uma variante de sentido trocado que ocorre no éxon 1, resultando na substituição de um aminoácido triptofano por uma arginina no códon 64 (Trip64Arg) do primeiro domínio transmembranar do receptor  $\beta$ 3; é a única mutação funcional no gene *ADRB3* (Liu *et al.*, 2007). Esta variante está relacionada com a obesidade visceral e com a resistência à insulina, assim como, com a dificuldade de

perder peso, devido uma maior taxa metabólica de repouso (Yoshioka *et al.*, 1996; Tchernof *et al.*, 1999; Oguri *et al.*; 2013; Baturin *et al.*, 2014).

Alguns estudos têm mostrado associação da variante 64Arg (alelo C) e desenvolvimento de DMT2, diminuição da resposta da insulina à glicose e diminuição da secreção de insulina dependente de glicose (Walston *et al.*, 2000; Perfetti *et al.*, 2001); outros relatam um aumento do IMC (Csernus *et al.*, 2014). No entanto, há trabalhos em que não foram observadas associações significativas entre essa variante e a obesidade (Mattevi *et al.*, 2006; Malik *et al.*, 2011).

#### **1.5.5. Gene UCP1 (proteína desacopladora 1)**

A UCP é uma proteína localizada na membrana mitocondrial interna dos adipócitos marrons, responsável por desacoplar a cadeia transportadora de elétrons durante a fosforilação oxidativa, sendo sua principal função gerar calor (Jia *et al.*, 2010; Brondani *et al.*, 2012; Chechi, *et al.*, 2013).

Já foram identificados cinco membros da família da UCP: UCP1, UCP2, UCP3, UCP4 e UCP5 (BMCP1) (Nübel *et al.*, 2006). Essas proteínas são estruturalmente semelhantes, porém são expressas em diferentes tecidos e algumas funções e implicações patológicas ainda não foram muito bem elucidadas como podemos observar na tabela 4 (Brondani *et al.*, 2012).

A UCP1 foi a primeira proteína desacopladora a ser identificada, e é expressa exclusivamente no TAM, onde atua desacoplando a cadeia transportadora de elétrons (promovendo a perda de prótons ( $H^+$ )), levando à produção de calor ao invés do armazenamento de energia sobre a forma de ATP; através desse processo, observa-se uma redução da eficiência metabólica (Azzu *et al.*, 2010; Jia *et al.*, 2010; Brondani *et al.*, 2012). Posteriormente, foram identificados dois homólogos da proteína UCP-1, denominadas UCP2 e UCP3. Estas apresentam uma homologia de 73%, e ambas são 56% semelhantes à UCP1 (Lowell e Spiegelman, 2000). A UCP2 é amplamente distribuída pelo corpo, incluindo o TAB, (Nübel *et al.*, 2006) e a UCP3 é expressa na musculatura esquelética (de Souza *et al.*, 2013).

Levando em conta o fato da UCP1 apresentar uma grande importância na termogênese e no gasto energético, sugere-se que esta proteína pode desempenhar um papel relevante na etiologia da obesidade (Lowell e Spiegelman, 2000).

A UCP1 é uma proteína de 32 Kilodaltons, codificada pelo gene *UCP1*, localizado no cromossomo 4q28-q31. O gene possui uma extensão de 9 Kb, contendo seis éxons e cinco íntrons (Dalgaard & Pedersen, 2001; Jia *et al.*, 2010; Brondani *et al.*, 2012). Algumas variantes já foram identificadas nesse gene em humanos. Apesar de muitos trabalhos mostrarem associações significativas com a obesidade e fenótipos relacionados, alguns estudos não observaram tais associações (revisão em Zandoná, 2010). Dentre elas, o polimorfismo rs6536991 (C>T), localizado no primeiro íntron, esse SNP foi associado ao aumento de IMC, outra variante estudada é o rs12502572 (A>G), localizada no quarto íntron, e até o momento, não há relatos desta com a obesidade (Ramos, *et al.*, 2012).

**Tabela 4:** Função proposta das proteínas desacopladoras (UCPs)

	UCP-1	UCP-2	UCP-3	UCP-4	UCP-5 (BMCP-1)
<b>Principal distribuição tecidual</b>	Tecido adiposo Marrom	Amplamente distribuída pelo corpo	Músculo esquelético	Sistema nervoso central	Cérebro
<b>Função fisiológica</b>	Termogênese Limitação de ROS?	Secreção de insulina Termogênese? Limitação de ROS? e/ouATP?	Termogênese Limitação de ROS? e/ou ATP? Metabolismo de ácidos graxos?	Termogênese Limitação de ROS? e/ou ATP?	Termogênese Limitação de ROS? e/ou ATP?
<b>Implicação patológica</b>	Intolerância ao frio Obesidade	Regulação da atividade inflamatória? Proteção contra aterosclerose, envelhecimento e diabetes? Progressão do câncer? Neuroproteção?	Obesidade? Efeitos pró-apoptóticos? Progressão do câncer?	Neuromodulação? Neuroproteção contra apoptose?	Sinalização do sistema nervoso central via ROS?

ATP: Adenosina trifosfato; ROS: Espécies reativas de oxigênio; UCP: Proteína desacopladora; ?: papel proposto

Fonte: Adaptado de Nübel *et al.*, 2006

### **1.6.6. Gene LEPR (receptor de leptina)**

O receptor da leptina, codificado pelo gene *LEPR*, é uma proteína transmembranar que pertence à família dos receptores de citocinas e apresenta um papel crucial na regulação do peso corporal (Ben Ali *et al.*, 2009b). O *LEPR* codifica várias isoformas (uma longa e várias curtas), que estão distribuídas em vários tecidos (Ahima e Osei, 2004). A isoforma longa contém 302 aminoácidos no domínio intracelular, é biologicamente ativa e é expressa em várias regiões do cérebro, abundantemente no hipotálamo, onde ativa a via transdutora de sinal de Janus tirosina quinase (JAK), que está envolvida na ativação do sistema de transcrição (STAT) para alterar a expressão de neuropeptídeos hipotalâmicos e promover a transcrição dos genes-alvo (Yiannakouris, 2001; Ahima e Osei, 2004).

O gene do receptor de leptina (*LEPR*), também denominado *OB-R*, tem sido amplamente estudado em busca de variantes que possam contribuir para fisiopatologia da obesidade. Acredita-se que polimorfismos nesse gene possam modificar a função do receptor levando a alterações nos níveis de leptina e no peso corporal (Liu *et al.*, 2004). O gene localiza-se no cromossomo 1p31.3, tem 70 kb de extensão e é composto por 20 éxons (Thompson *et al.*, 1997).

Os polimorfismos localizados no gene *LEPR* têm sido associados à obesidade e fenótipos relacionados (Yiannakouris *et al.*, 2001; Mattevi *et al.*, 2002; Fairbrother *et al.*, 2007; Duarte *et al.*, 2007; Constantin *et al.*, 2010; Furusawa *et al.*, 2010; Tabassum *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2013). Uma das variantes mais estudadas é o polimorfismo rs1137101, localizado no exón 6, que consiste em uma troca de A>G, levando à substituição de glutamina por arginina na posição 223 do receptor (Gln223Arg). Alguns estudos associaram este polimorfismo a um aumento dos valores de IMC e aumento do peso corporal, sobrepeso e obesidade (Yiannakouris *et al.*, 2001; Mattevi *et al.*, 2002; Furusawa *et al.*, 2010). Além disso, foi observado um aumento nos níveis plasmáticos de leptina (Guízar-Mendoza *et al.*, 2005).

Outra variante estudada no mesmo gene é rs1137100, localizada no exón 2, que consiste em uma transição de A>G, onde a lisina é substituída por arginina na posição 109 do receptor (Lys109Arg). Esse polimorfismo está associado ao aumento



dos valores de IMC e ao perfil lipídico (Labayen *et al.*, 2011). Por outro lado, no trabalho de Furusawa e colaboradores (2010) não foi observada uma associação desse polimorfismo com obesidade, aumento do peso corporal e IMC.

Por fim, há o polimorfismo rs1805094 (G>C), localizado no éxon 12, que leva a uma substituição de lisina para asparagina na posição 653 do receptor (Lys656Asn). Para essa variante não foi observada nenhuma associação com IMC e obesidade (Rosmond *et al.*, 2000; Yiannakouris *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2013).

## II. JUSTIFICATIVA

A obesidade é uma doença complexa e multifatorial, determinada por fatores genéticos e ambientais, constituindo um problema de saúde pública. Diversos estudos demonstram de forma evidente a participação do componente genético na incidência da obesidade. Apesar do número relativamente alto de trabalhos realizados, o papel de variantes genéticas no desenvolvimento da obesidade necessita de melhores esclarecimentos.

Os estudos realizados com o objetivo de estabelecer possíveis associações entre variantes de genes candidatos da obesidade com os respectivos fenótipos relacionados demonstram frequentemente resultados contraditórios ao analisarem tais relações em amostras de populações caracterizadas, geralmente, por sua homogeneidade genética, tais como caucasianos, asiáticos ou negros. No Brasil e particularmente em algumas regiões com extensas áreas urbanas ocorreu importante miscigenação entre numerosos grupos de etnias, como por exemplo, o Rio de Janeiro onde diferentes grupos ancestrais contribuíram para a formação inicial dessa população: Europeus (52%), Africanos (41%) e Ameríndios (7%) (Pena *et al.*, 2011), mas cuja complexidade foi aumentada recentemente pela introdução de grupos étnicos como os judeus, árabes, coreanos, chineses, latinoamericanos e outros migrantes, o que dificulta mais ainda o entendimento da obesidade.

Este trabalho visa contribuir para a compreensão das interações entre diferentes genes e sua possível relação com a obesidade e fenótipos relacionados.

Além das medidas antropométricas, pressóricas e bioquímicas avaliadas nesse trabalho, existem outros parâmetros importantes que devam ser considerados, tais como: ambiente, estilo de vida e estado psicológico, porém neste primeiro momento não foram analisados. Essa necessidade é apontada pelo amplo espectro dessa doença complexa e multifatorial.

### III. OBJETIVOS

#### III. 1. Objetivo Geral

Investigar a influência/associação de polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R*, *PPARG*, *ADRB3*, *UCP1* e *LEPR* com o desenvolvimento da obesidade em uma população de composição étnica extremamente complexa como a do Rio de Janeiro.

#### III.2. Objetivos Específicos

1. Investigar diferenças nos parâmetros antropométricos, pressóricos e bioquímicos entre obesos e eutróficos, entre os sexos e os diferentes graus de obesidade.

2. Realizar a genotipagem dos polimorfismos nos genes *FTO* (rs9939609; rs1121980; rs17817449), *MC4R* (rs2229616; rs17782313), *PPARG* (rs1801282), *ADRB3* (rs4994), *UCP1* (rs6536991; rs12502572) e *LEPR* (rs1805094; rs1137100; rs1137101), em amostra de indivíduos obesos e eutróficos.

3. Determinar e comparar as frequências genotípicas e alélicas entre os indivíduos obesos e eutróficos.

4. Testar se as amostras de obesos e eutróficos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os polimorfismos dos genes estudados.

5. Investigar a associação desses polimorfismos com a variabilidade dos parâmetros antropométricos, pressóricos e bioquímicos que caracterizam o fenótipo da obesidade.

6. Verificar através de uma análise de regressão multivariada as relações e interações entre as diferentes características fenotípicas que de alguma maneira estão relacionados à obesidade.

## **IV. METODOLOGIA**

### **IV.1. Casuística**

No presente estudo, as amostras analisadas estão constituídas por 100 indivíduos eutróficos e 100 obesos, de ambos os sexos, recrutados entre funcionários e estudantes do Hospital Universitário Pedro Ernesto – UERJ e policiais pertencentes ao quadro permanente da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro, respeitando-se os critérios de inclusão e exclusão. As amostras foram coletadas no período de 19/10/2011 a 10/08/2012.

Todos os indivíduos selecionados foram informados sobre os detalhes do estudo e concordaram em participar da avaliação clínica, metabólica e molecular, mediante a assinatura prévia do termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A).

Este estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (ANEXO B).

A avaliação genético-molecular foi desenvolvida na Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO) em colaboração com o Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental (CLINEX/UERJ).

#### **IV.1.1. Critérios de Inclusão**

Todos os indivíduos inseridos no estudo atenderam aos seguintes quesitos:

- ✓ Idade entre 18 e 60 anos
- ✓ Grupo eutrófico,  $18,5 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$
- ✓ Grupo obeso,  $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ 
  - Obeso grau I:  $\text{IMC} < 35 \text{ kg/m}^2$
  - Obeso grau II:  $\text{IMC} < 40 \text{ kg/m}^2$
  - Obeso grau III:  $\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$
- ✓ Ser capaz de ler, compreender e assinar o termo de consentimento informado.

#### **IV.1.2. Critérios de Exclusão**

- ✓ Presença de diabetes *mellitus* Tipo 2 (definido como glicemia de jejum > 125mg/dL).
- ✓ Presença de hipertensão arterial estágio 2, de acordo com o *The Seventh Report Joint National Committee* (JNC VII) ou uso de medicação anti- hipertensiva.
- ✓ História progressiva de evento cardiovascular (Síndrome coronariana aguda, acidente vascular encefálico e doença arterial periférica sintomática).
- ✓ Comorbidades Crônicas como doença pulmonar obstrutiva, alteração de função hepática (avaliada pela determinação de transaminases, fosfatase alcalina, gama GT, proteínas e atividades de protrombina), doenças autoimunes, doença renal crônica (caracterizada por creatinina sérica > 1,4 mg/dL), endocrinopatias (exceto disfunção tiroideana compensada), doenças psiquiátricas (incluindo bulimia ou anorexia nervosa de acordo com os critérios do DSM-IV), neoplasias malignas e doença inflamatória intestinal.
- ✓ Gestação e lactação.
- ✓ Doenças Hematológicas.
- ✓ Uso de substâncias ilícitas como maconha e cocaína.
- ✓ Uso de fármacos fitoterápicos para emagrecimento ou transtorno do humor como erva de São João, cáscara sagrada, etc.
- ✓ Uso, nos três meses anteriores, de fármacos relacionados à perda de peso como Orlistat, Sibutramina e anfetaminas.
- ✓ Uso prolongado de corticoesteroides sistêmicos ou anti-inflamatórios.
- ✓ Uso de drogas que afetam o metabolismo dos carboidratos e lipídios, tais como metformina e hipolipemiantes e drogas anti-hipertensivas.

#### **IV.2. Avaliação Clínica**

A avaliação clínica, caracterização antropométrica (IMC, CC, RCQ e DAS), avaliação dos níveis pressóricos, coleta do material biológico e análise bioquímica (perfil lipídico e dosagem de leptina) foram realizadas pela equipe do CLINEX/UERJ.

### **IV.3. Coleta de sangue periférico**

Para as análises bioquímicas e genéticas foram coletados 8 mL de sangue periférico em tubos específicos (soro e EDTA) , após um período de 12 horas de jejum. As alíquotas de plasma e soro foram estocadas a -20 °C, conforme apropriado para realização das análises bioquímicas e os tubos de sangue contendo EDTA foram encaminhados para o Laboratório de Genética da UNIGRANRIO (LabGen) para extração de DNA e a análise molecular.

#### **IV.3.1. Extração do DNA Genômico**

A extração e purificação do DNA genômico compreendem várias etapas que incluem a lise das células, extração de proteínas e do RNA e precipitação do DNA.

Todas as 200 amostras foram extraídas a partir de uma alíquota de sangue periférico. Para extração de DNA foi utilizado o kit comercial “*FlexiGene DNA Kit*” (Qiagen®), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante.

Para avaliar o material extraído de forma qualitativa, foi estimada a concentração de DNA nas amostras através de eletroforese em gel de agarose (Sigma-Aldrich®) a uma concentração de 1%, corados com GelRed™ (Biotium). As amostras foram armazenadas em freezer -20°C no LabGen.

#### **IV.3.2. Avaliação Genético-Molecular**

Para avaliação molecular foram analisados doze polimorfismos de seis genes candidatos ou moduladores da obesidade, utilizando duas metodologias diferentes, PCR-RFLP (Polimorfismo de Fragmento Único de Restrição) e PCR em tempo real, descritas abaixo.

##### ***IV.3.2.1. RFLP-PCR (Restriction Fragments Length polymorphisms)***

A genotipagem dos polimorfismos nos genes *PPARG* (rs1801282), *ADRB3* (rs4994) e *MC4R* (rs2229616), foi realizada através da técnica de PCR-RFLP. Após a

PCR convencional, o produto foi submetido à clivagem utilizando enzimas de restrição específicas para cada um dos polimorfismos.

**Tabela 5:** Polimorfismos genotipados por *PCR-RFLP*\*.

Genes	dbSNP ID	Primer <i>Foward</i>	Primer <i>Reverse</i>	Endonuclease de restrição	Referências
<b>PPARG</b>	rs1801282	5'CCAATTCAAGCCCAGTCCTTTC 3'	5'-CAGTGAAGGAATCGCTTCCG 3'	<i>BstU-I</i>	Tavares <i>et al.</i> , 2005
<b>ADRB3</b>	rs4994	5' CGCCCAATACCGCCAACAC 3'	5' CCACCAGGAGTCCCATCACC 3'	<i>BstNI</i>	Ochoa <i>et al.</i> , 2004
<b>MC4R</b>	rs2229616	5' ATGGAGGGTGCTACGAGCAACT 3'	5' TCTGTACTGTTTAATAGGGTGTG 3'	<i>HincII</i>	Gotoda <i>et al.</i> , 1997

\**Primers* construídos pela empresa *Life Technologies*

#### IV.3.2.1.1. Polimorfismo rs1801282 do gene PPARG

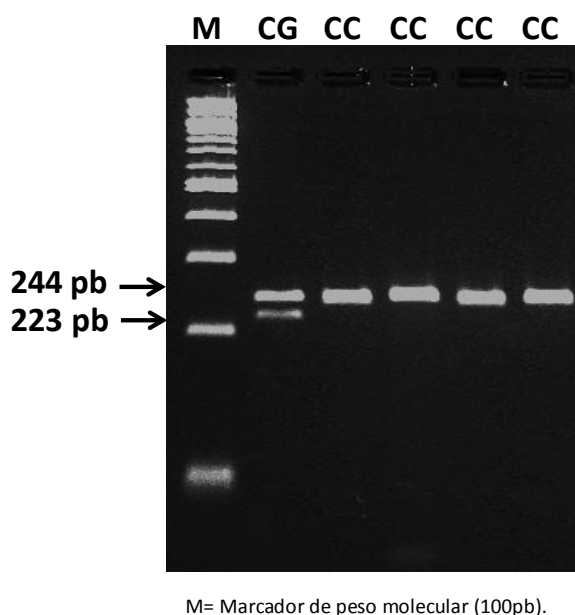
A região do DNA que abrange o polimorfismo Pro12Ala foi amplificada através da técnica de PCR. Os primers/iniciadores utilizados foram descritos por Tavares e colaboradores (2005) (tabela 5). As reações foram realizadas utilizando 1 µl (50ng) de DNA genômico, 5 pmoles de cada iniciador (Senso e Antisenso), 1X de Tampão, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2mM de cada nucleotídeo (dATP, dCTP, dTTP e dGTP), 1 U da enzima Taq DNA polimerase (Vivantis Technologies) e água estéril, para atingir um volume final 25 µl.

A PCR foi realizada no termociclador Therm -1000/ Maxygene (Axigen®). Para amplificação foi utilizada uma ciclagem que incluiu uma desnaturação inicial de 98°C durante 3 minutos, seguido por 30 ciclos a 94°C por 1 min., 62°C por 1 min e 72°C durante 1 min. A extensão final foi de 72°C por 10 min.

Para verificar a amplificação, os produtos de PCR (244 pb) foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com GelRed™ (Biotium) visualizados em transluminador UV (Biometrix).

Em seguida, os produtos de PCR foram digeridos utilizando 5U da endonuclease de restrição *BstU-I* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) e incubados por 60°C durante 2 horas, utilizando o tampão recomendado pelo fabricante.

Após a digestão as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 4%, corados e visualizados no transluminador, devidamente fotografados e armazenados. Os tamanhos dos produtos após a digestão foram: 244 pb para homozigotos selvagens (CC), 244, 223 e 21 pb para heterozigotos (CG) e 223 e 21 pb para homozigotos mutados (GG), não encontrados na nossa amostra (figura 5).



**Figura 5:** Fotografia de um gel de agarose do polimorfismo rs1801282 após a clivagem com a endonuclease de restrição *BstU-I*.

#### IV.3.2.1.2. Polimorfismo rs4994 do gene ADRB3

A região do DNA que abrange o polimorfismo Trp64Arg foi amplificada através da técnica de PCR. Os iniciadores utilizados foram descritos por Ochoa e colaboradores (2004) (tabela 5).

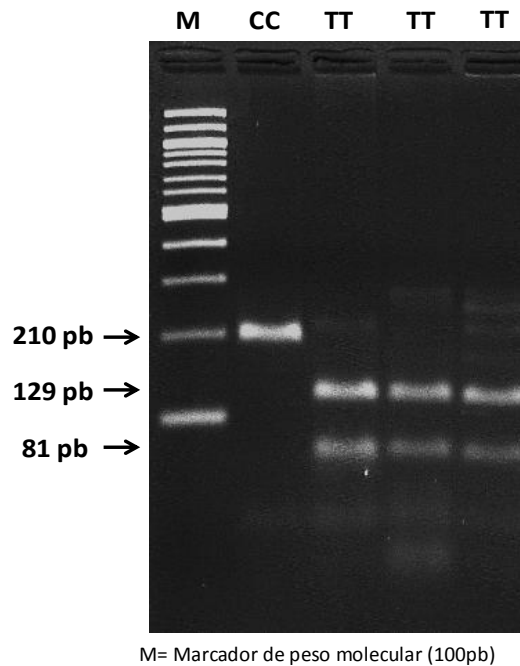
Para amplificação foi utilizada uma ciclagem que incluiu uma desnaturação inicial de 94°C durante 5 minutos, seguido por 35 ciclos a 94°C por 30 seg., 61°C por 30



seg. e 72°C durante 30 seg. A extensão final foi de 72°C por 10 min.

Para verificar se a amplificação ocorreu, os produtos da PCR (210 pb) foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com GelRed™ (Biotium) e visualizados em transluminador. Em seguida, os produtos de PCR foram digeridos utilizando 10 U da endonuclease de restrição *BstNI* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) e incubados por 60°C durante 2 horas e 30 minutos, utilizando o tampão recomendado pelo fabricante.

Após a digestão as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2,5%, corados com GelRed™ e as bandas foram visualizadas através do transluminador, devidamente fotografados e armazenados. Os tamanhos dos produtos após a digestão foram: 129 e 81 pb para homozigotos selvagens (TT), 210, 129 e 81 pb para heterozigotos (CT) e 210 pb para homozigotos mutados (CC) (figura 6).



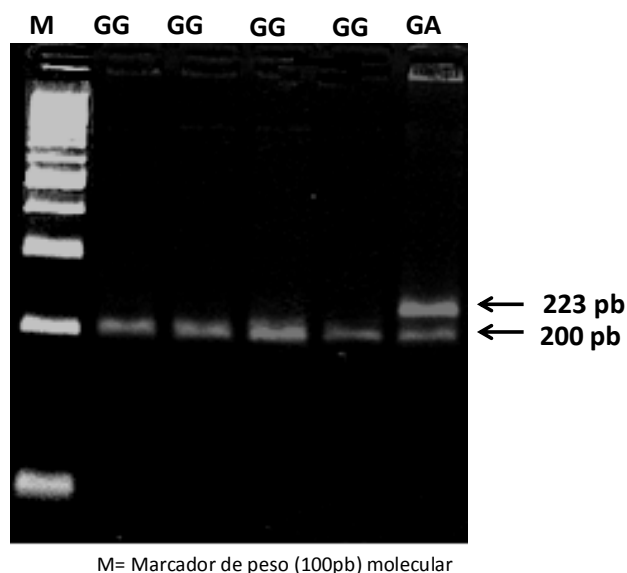
**Figura 6:** Fotografia de um gel de agarose do polimorfismo rs4994 após a clivagem com a endonuclease de restrição *BstNI*.

#### IV.3.2.1.3. Polimorfismo rs2229616 do gene MC4R

A região do DNA que abrange o polimorfismo Val103Ile foi amplificada por PCR. Os iniciadores utilizados foram descritos por Gotoda e colaboradores (1997) (Tabela 5). Para amplificação foi utilizada uma ciclagem que incluiu uma desnaturação inicial de 95°C durante 10 minutos, seguido por 30 ciclos a 94°C por 1 min., 50°C por 1 min. e 72°C durante 1 min. A extensão final foi de 72°C por 10 min.

Para verificar a amplificação, os produtos de PCR (223 pb) foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com Gel Red e visualizados no transluminador.

Em seguida, os produtos de PCR foram digeridos utilizando 10U da endonuclease de restrição *HincII* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) e incubados por 60°C durante 2 horas e 30 minutos, utilizando o tampão recomendado pelo fabricante. Após a digestão as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 4%, corados com GelRed e as bandas foram visualizadas através do transluminador, devidamente fotografados e armazenados. Os tamanhos dos produtos após a digestão foram: 200 pb e 23 pb para homozigotos selvagens GG, 223, 200 e 23 pb para heterozigotos (GA) e 223 pb para homozigotos mutados (AA), não encontrados na nossa amostra (figura 7).

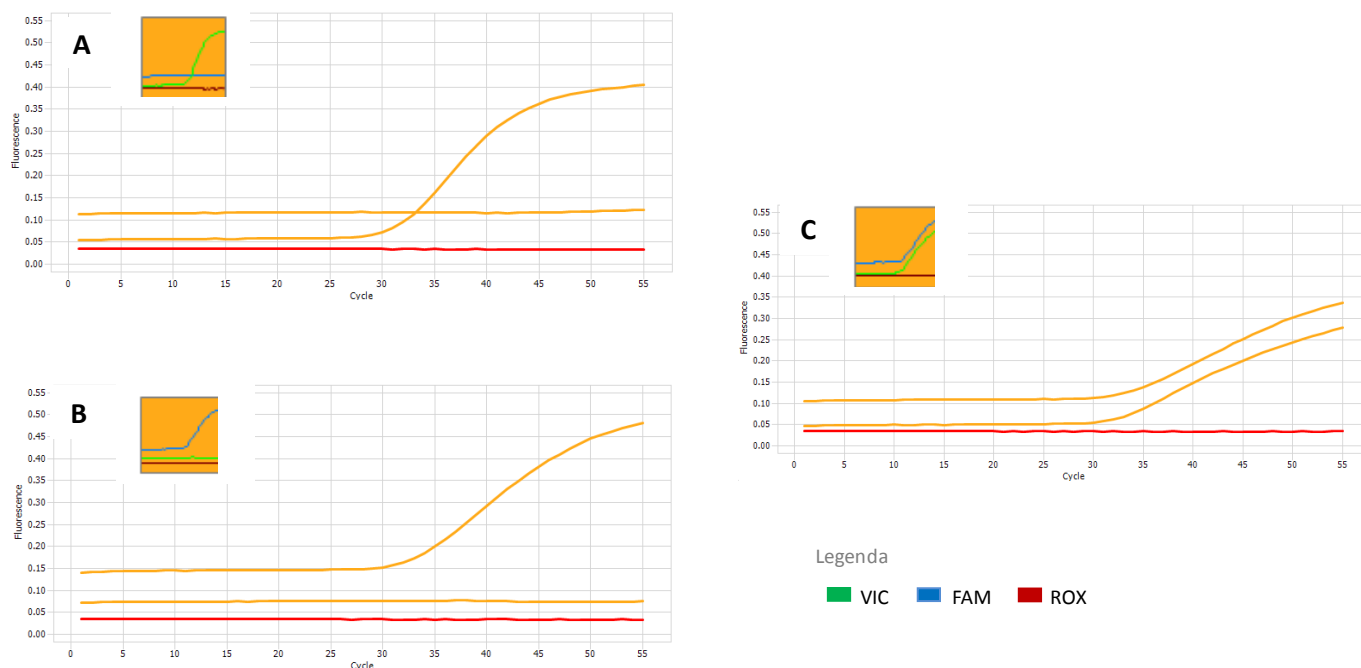


**Figura 7:** Fotografia de um gel de agarose do polimorfismo rs2229616 após a clivagem com a endonuclease de restrição *HincII*.

### IV.3.2.2. PCR em Tempo Real

Os polimorfismos dos genes *FTO* (rs9939609, rs1121980, rs17817449), *LEPR* (rs1805094; rs1137100; rs1137101), *UCP1* (rs6536991; rs12502572) e *MC4R* (rs17782313), foram genotipados por discriminação alélica através da técnica de PCR em Tempo Real utilizando sondas TaqMan®.

Para análise de todos os polimorfismos, foram realizadas reações utilizando TaqMan Genotyping Master Mix® (2x), sonda TaqMan® (40x) específica para cada variante estudada, 10-30ng de DNA genômico e água estéril, conforme o protocolo estabelecido pelo fabricante. Para toda reação foi incluído um controle negativo realizado em duplicata, para garantir que não houve nenhuma contaminação. As condições de amplificação foram diferentes para cada polimorfismo estudado, como apresentado na tabela 6. Todas as análises foram realizadas com o equipamento ECO™ Real Time PCR (Illumina). Os resultados foram analisados utilizando o software EcoStudy versão 5.0.



**Figura 8:** Gráficos Multicomponentes. O eixo y indica a fluorescência do fluoróforo e o eixo x o número de ciclos. A curva verde é indica a fluorescência do VIC e o azul é a fluorescência do FAM. O gráfico **A** representa um homozigoto selvagem, o **B** um homozigoto mutado e o **C** representa um heterozigoto.

**Tabela 6:** Sondas e condições de amplificação dos SNPs estudados por PCR em tempo real.

<i>Gene</i>	<i>dbSNP ID</i>	Sequência das Sondas TaqMan® (VIC®/FAM®)*	Condições de amplificação
<b>MC4R</b>	rs17782313	GTTTAAAGCAGGAGAGATTGTATCC[C/T]GATGGAAATGACAAGAAAAGCTTCA	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 40 ciclos 60°C - 1 min
	rs9939609	GGTTCCTGCGACTGCTGTGAATTT[A/T]GTGATGCACTTGGATAGTCTCTGTT	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 40 ciclos 60°C - 1 min
<b>FTO</b>	rs1121980	TCCTAGTCACGTGTCTTGGTACTAT[A/G]TGAGATTTGAGATCCACCTGCCTAC	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 50 ciclos 62°C - 1 min
	rs17817449	GTGTTTCAGCTTGGCACACAGAAAC[G/T]GTTTTAATTTAACAGTCCAGCTCCT	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 45 ciclos 60°C - 30 seg
	rs1805094	TAATTAATGGAGATACTATGAAAAA[C/G]GAGAAAAATGTCACCTTACTTTGGA	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 40 ciclos 60°C - 1 min
<b>LEPR</b>	rs1137100	TTATGTGCAGACAACATTGAAGGAA[A/G]GACATTTGTTTCAACAGTAAATTCT	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 50 ciclos 62°C - 1 min
	rs1137101	ATCACATCTGGTGGAGTAATTTTCC[A/G]GTCACCTCTAATGTCAGTTCAGCCC	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 50 ciclos 60°C - 1 min
	rs6536991	ATCCTTCACTCCCAAACATGTCTT[C/T]TCTTCACTGACATGAACTTTTCAA	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 40 ciclos 60°C - 1 min
<b>UCP1</b>	rs12502572	TGTGTTGATCATGTACTAAATGTGC[A/G]TCAACTCAGAGTAAGGCTAGAAAAC	50°C - 2 min 95°C- 10 min 95°C - 15 seg } 50 ciclos 60°C - 30 seg

\* Sondas Taqman® construídas pela empresa Life Technologies

#### **IV.4. Análise Estatística**

Para verificar a normalidade da distribuição das variáveis quantitativas (dosagens bioquímicas e medidas antropométricas e níveis pressóricos), foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis com distribuição normal são apresentadas na forma de média e desvio padrão, e aquelas sem distribuição normal através de mediana e percentis de 25% e 75%.

As análises comparativas das variáveis qualitativas (polimorfismos) foram realizadas usando o teste do Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), enquanto que as comparações de variáveis quantitativas entre dois ou mais grupos foram feitas através do teste t-student ou Análise de variâncias (ANOVA, *one* ou *two way*), quando as distribuições das mesmas se ajustaram à distribuição normal. Quando as variáveis tiveram distribuições não normais, os testes aplicados foram os não paramétricos Mann-whitney ou Kruskal-Wallis.

##### **IV.4.I. Análise Multivariada**

Todas as variáveis qualitativas e quantitativas, possivelmente associadas com a obesidade, foram analisadas através de um estudo de regressão multivariada, a fim de verificar os possíveis efeitos ou interações entre elas. O modelo básico utilizado foi à análise de regressão linear, seguindo protocolo a ser detalhado abaixo:

- a) Inicialmente deve-se mencionar que foi feita uma análise prévia que incluía tanto a idade quanto o sexo, mas como esta última variável não tinha nenhum efeito significativo, o ajuste dos modelos foi feito somente com a idade, a qual foi incluída na análise como covariante.
- b) A seguir foram construídos modelos de regressão linear múltipla, estabelecendo como dependentes cada uma das variáveis, incluindo como independentes todas as outras variáveis e os doze polimorfismos do presente estudo.
- c) Para inclusão no modelo de regressão das variáveis quantitativas nos

polimorfismos, os valores dos sistemas polimórficos foram previamente transformadas de acordo com o seguinte critério: i) Contagem do número de alelos em cada grupo; ii) cálculo do OR desses alelos; iii) aqueles alelos cujo OR foi maior a 1,0 (independente de sua significância) foram usados como base para a transformação: 0 = Ausência desse alelo-base e 1 = Presença do alelo-base (ver exemplo na tabela 7).

- d) Adicionalmente foram feitas as análises de regressão linear múltipla, usando o método *Stepwise*, o qual se caracteriza por iniciar a análise com uma regressão linear simples entre a variável dependente e a independente que apresente a maior correlação com ela (Modelo 1).
- e) A seguir foi criado um novo modelo com a introdução da segunda variável mais importante em relação à variação na variável dependente. Isto foi mensurado através de um teste das diferenças entre os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) do modelo 2 em relação ao modelo 1. Este processo foi repetido até que o teste entre os modelos se tornasse insignificante, de maneira que o modelo final continha somente as variáveis independentes que efetivamente contribuíram para a mudança na variação da dependente.

Nota: Considerando que os efeitos dos fatores genéticos em geral são pequenos em relação às variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas, as análises de regressão foram feitas em duas partes: i) Usando como variáveis independentes as antropométricas, pressóricas e bioquímicas e ii) incluindo como independentes somente os polimorfismos genéticos. Deve-se mencionar que todas as inferências estatísticas foram feitas ao nível de significância de 5% e os programas computacionais utilizados foram o EXCEL e SPSS V.16.

**Tabela 7:** Exemplo de recodificação dos genótipos

<b>Alelo</b>	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>Total</b>	<b>p</b>	<b>a</b>	<b>Σpa</b>
<b>Obeso</b>	104	92	196	0,53	55,18	128,00
<b>Eutrófico</b>	117	71	188	0,62	72,81	
<b>Total</b>	221	163	384	0,58	127,19	

ad	7384	OR	0,686
bc	10764	1/OR	1,458
Recodificação		<b>AA=0</b>	<b>GG+AG=1</b>

## V. RESULTADOS

### V.1. Análise descritiva

Foram analisados 200 indivíduos, dentre eles, 100 obesos (50 homens e 50 mulheres) e 100 eutróficos (50 homens e 50 mulheres).

A tabela 8 apresenta os resultados comparativos da distribuição dos parâmetros antropométricos, pressóricos e bioquímicos em obesos e eutróficos. A categorização entre eutróficos e obesos foi feita através do cálculo do IMC (eutróficos  $\geq 18,5$  a  $<25\text{Kg/m}^2$ ; obesos  $\geq 30\text{Kg/m}^2$ ). Essas comparações mostraram que a circunferência da cintura, razão cintura/quadril, diâmetro abdominal sagital, pressão arterial sistólica, diastólica e média, triglicerídeos, LDL e leptina foram significativamente maiores em obesos, e o colesterol HDL foi significativamente maior em eutróficos, enquanto que os níveis de colesterol total não apresentaram diferença significativa entre esses dois grupos.

Em geral as variáveis bioquímicas e/ou antropométricas são influenciadas pela idade e sexo, razão pela qual elas seriam incluídas como covariáveis nas análises multivariadas, porém como os efeitos do sexo (nas análises de regressão múltipla) não foram significantes, a correção foi feita somente pela idade. Pode-se observar que a idade em eutróficos foi significativamente menor que nos obesos.



**Tabela 8:** Análise comparativa das variáveis quantitativas para obesos e eutróficos

Variáveis	EUTRÓFICOS (n=100)	OBESOS (n=100)	p*
Idade (anos)	32,35 ± 9,80	37,57± 10,15	0,000
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,54 ± 1,83	35,74 ± 5,50	0,000
CC (cm)	78,97 ± 7,20	110,40 ± 13,99	0,000
RCQ	0,84 ± 0,10	0,94 ± 0,08	0,000
DAS (cm)	16,78± 3,04	24,26 ± 3,60	0,000
PAS (mmHg)	117,39 ± 11,42	128,58 ± 14,62	0,000
PAD (mmHg)	71,73 ±7,79	79,86 ± 9,77	0,000
PAM (mmHg)	86,90 ± 8,30	96,01 ± 10,99	0,000
Triglicerídeos (mg/dl)	73,0 (60,0; 90,0)	106,5 (77,0; 149,0)	0,000
Colesterol (mg/dl)	181,93 ± 37,10	190,73 ± 43,68	0,126
HDL-c (mg/dl)	58,01 ± 13,79	47,13 ± 12,76	0,000
LDL-c (mg/dl)	108,10 ± 32,00	120,10 ± 39,30	0,018
Leptina (µg/ml)	3,82 (1,35; 9,20)	17,34 (8,96; 30,60)	0,000

Os valores representam média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal, ou mediana (percentil 25; percentil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001.

CC: circunferência da cintura; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: LDL- colesterol; HDL-c: colesterol HDL.

A comparação das variáveis quantitativas em relação ao sexo (Tabela 9) mostra que a razão cintura-quadril, circunferência da cintura, diâmetro abdominal sagital, pressão arterial sistólica e triglicerídeos foram significativamente maiores em homens, enquanto que o HDL e a leptina foram significativamente maiores em mulheres. Por outro lado, idade, IMC, pressão arterial diastólica, pressão arterial média, colesterol total e LDL não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

**Tabela 9:** Análise comparativa das variáveis quantitativas entre os sexos

Variáveis	MULHERES (n=100)	HOMENS (=100)	p*
Idade (anos)	34,34 ± 10,88	35,58 ± 9,68	0,395
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,81 ± 8,07	29,47 ± 7,50	0,555
CC (cm)	86,43 ± 18,61	93,31 ± 19,19	0,010
RCQ	0,84 ± 0,90	0,94 ± 0,10	0,000
DAS (cm)	19,71 ± 4,91	21,34 ± 4,99	0,021
PAS (mmHg)	119,88 ± 14,14	126,09 ± 13,70	0,002
PAD (mmHg)	75,95 ± 9,37	75,64 ± 10,08	0,082
PAM (mmHg)	90,46 ± 10,42	92,45 ± 10,97	0,191
Triglicerídeos (mg/dl)	75,50 (58,25; 107,75)	95,00 (73,25; 139,00)	0,000
Colesterol (mg/dl)	188,40 ± 41,58	184,26 ± 38,83	0,473
HDL-c (mg/dl)	59,12 ± 14,08	46,02 ± 11,31	0,000
LDL-c (mg/dl)	112,38 ± 37,39	115,81 ± 35,18	0,505
Leptina (µg/ml)	16,31 (8,74; 28,74)	3,62 (1,19; 9,72)	0,000

Os valores representam média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal ou mediana (percentil 25; percentil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001. IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDI-c: LDL- colesterol; HDL-c: colesterol HDL.

Na análise seguinte, o grupo de obesos foi subdividido, seguindo a classificação da OMS, em obesos grau I (IMC ≤ 35), grau II (35 ≤ IMC < 40) e grau III (IMC ≥ 40). A tabela 10 mostra a caracterização das variáveis por grau de adiposidade. Observamos um aumento significativo progressivo da circunferência da cintura, diâmetro abdominal sagital e leptina. Nas demais variáveis não houve diferenças significativas. Nesta tabela não incluímos o IMC, pois é ele quem define a classe de obesidade.

**Tabela 10:** Análise comparativa das variáveis quantitativas entre obesos por grau de adiposidade

Variáveis	OBESO GRAU 1 (n=54)	OBESO GRAU 2 (n=32)	OBESO GRAU 3 (n=14)	p*
Idade (anos)	38,76 ± 9,98	36,31 ± 9,65	35,86 ± 11,95	0,447
CC (cm)	103,08 ± 11,16	113,10 ± 7,79	129,78 ± 15,30	0,000
RCQ	0,93 ± 0,09	0,095 ± 0,08	0,95 ± 0,10	0,420
DAS (cm)	22,54 ± 2,99	25,45 ± 2,48	28,14 ± 3,88	0,000
PAS (mmHg)	128,63 ± 14,20	126,88 ± 16,10	132,29 ± 13,08	0,640
PAD (mmHg)	79,63 ± 10,72	79,59 ± 8,86	81,36 ± 8,19	0,829
PAM (mmHg)	95,93 ± 11,85	95,22 ± 10,57	98,14 ± 8,61	0,710
Triglicerídeos (mg/dl)	107,00 (73,00; 150,00)	104,50 (75,00; 137,00)	114,00 (95,00; 136,00)	0,571
Colesterol (mg/dl)	188,31 ± 36,55	192,03 ± 53,86	197,07 ± 45,75	0,787
HDL-c (mg/dl)	47,78 ± 13,35	45,00 ± 10,66	49,50 ± 14,92	0,474
LDL-c (mg/dl)	116,30 ± 34,60	125,40 ± 46,70	122,40 ± 39,50	0,410
Leptina (µg/ml)	16,51 (6,16; 25,87)	17,16 (8,55; 32,12)	30,11 (21,69; 51,73)	0,007

Os valores representam média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal ou mediana (percentil 25; percentil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001

CC: circunferência da cintura; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: LDL- colesterol; HDL-c: colesterol HDL.

## V.2. Análise Genética

Para os polimorfismos localizados nos genes *FTO*, *MC4R*, *UCP1* e *LEPR* as distribuições genótípicas se ajustaram ao modelo de equilíbrio genético de Hardy-Weinberg.

Devido a uma baixa frequência do alelo G no polimorfismo rs1801282 do gene *PPARG*, do alelo C do polimorfismo rs4994 do gene *ADRB3* e do alelo A do polimorfismo rs2229616 do gene *MC4R*, e a ausência dos homocigotos para esses alelos, não foi possível testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg, por falta de graus de liberdade.

Abaixo são mostrados os resultados observados para cada um dos genes.

## V.2.1. Gene *FTO*

### V.2.1.1. Análise de frequências e distribuição genotípica

Os resultados seguintes mostram que não há diferenças estatisticamente significantes nas frequências genotípicas e alélicas entre os grupos eutróficos e obesos para nenhum dos polimorfismos analisados no gene *FTO* (rs9939609, rs1121980 e rs17817449) (Tabela 11).

**Tabela 11:** Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene *FTO*

Polimorfismo	Genótipo	Obesos	Eutróficos	Total	$p'$
rs9939609	AA	21 (0,21)	18 (0,19)	39	0,260
	AT	51 (0,52)	42 (0,44)	93	
	TT	26 (0,27)	36 (0,38)	62	
	<b>Total</b>	98	96	194	
	<b>P (H-W)</b>	0,666	0,362		
	<b>Alelos</b>				$p''$
	A	93 (0,47)	78 (0,41)	171	0,179
T	103 (0,53)	114 (0,59)	217		
<b>Total</b>	196	192	388		
rs1121980	<b>Genótipo</b>				$p'$
	AA	24 (0,24)	18 (0,19)	42	0,605
	AG	47 (0,48)	48 (0,50)	95	
	GG	27 (0,28)	30 (0,31)	57	
	<b>Total</b>	98	96	194	
	<b>P (H-W)</b>	0,692	0,877		
	<b>Alelos</b>				$p''$
A	95 (0,48)	84 (0,44)	179	0,351	
G	101 (0,52)	108 (0,56)	209		
<b>Total</b>	196	192	388		
rs17817449	<b>Genótipo</b>				$p'$
	GG	20 (0,20)	16 (0,17)	36	0,799
	GT	44 (0,45)	45 (0,47)	89	
	TT	34 (0,35)	35 (0,36)	69	
	<b>Total</b>	98	96	194	
	<b>P (H-W)</b>	0,409	0,811		
	<b>Alelos</b>				$p''$
G	84 (0,43)	77 (0,40)	161	0,582	
T	112 (0,57)	115 (0,60)	227		
<b>Total</b>	196	192	388		

O valor de  $p$  é referente ao  $\chi^2$  realizado para testar o equilíbrio de Hardy e Weinberg;  $p'$  é o valor da significância na comparação da distribuição genotípica entre eutróficos e obesos;  $p''$  é o valor da significância na comparação alélica entre obesos e eutróficos.

### **V.2.1.2. Efeito dos polimorfismos rs9939609, rs1121980 e rs17817449 sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos**

A análise de classificação dupla (ANOVA) sobre as variáveis quantitativas para estudar os possíveis efeitos do grupo e dos polimorfismos rs9939609, rs1121980 e rs17817449, não mostrou nenhum efeito significativo em nenhum dos três polimorfismos analisados.

A partir desse resultado, para determinar se o efeito dos polimorfismos sobre tais variáveis poderia ser diferente entre os grupos, foi feita uma estratificação dos mesmos (obesos e eutróficos) e realizada uma ANOVA de classificação simples. Nestas análises, verificou-se a existência de efeitos significantes desses polimorfismos para o grupo de obesos (Tabelas 12, 13 e 14).

O polimorfismo rs9939609, nos obesos, mostrou uma associação do homozigoto TT com os valores altos dos triglicerídeos (Tabela 12). Em ambos os grupos observa-se um decréscimo dos triglicerídeos nos heterozigotos e um aumento em ambos os homozigotos, sendo que entre os obesos, o aumento quantitativo dos triglicerídeos foi significativamente maior nos homozigotos TT (Gráfico 1).

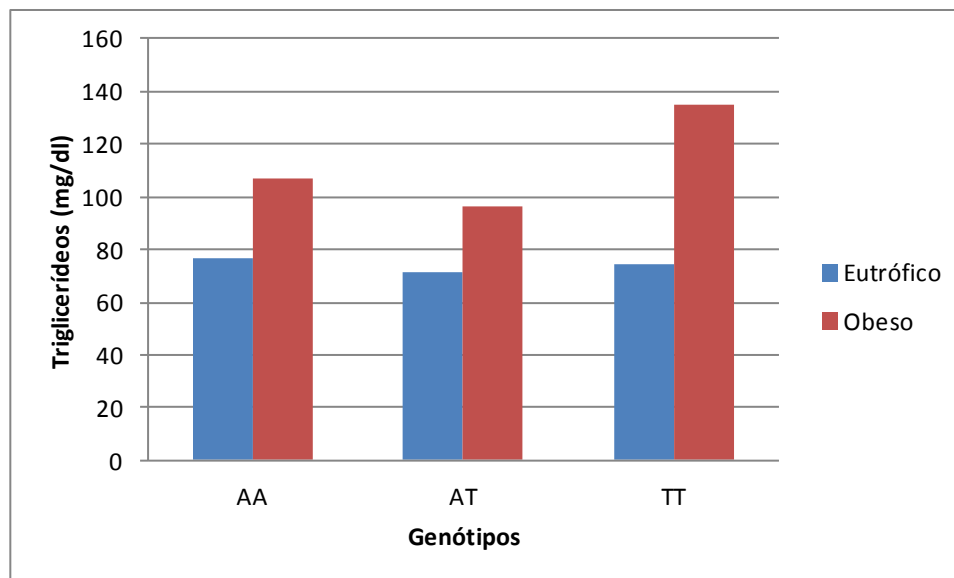
**Tabela 12:** Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs9939609 do gene *FTO* em eutróficos e obesos

Variáveis	EUTRÓFICO			<i>p</i> *	OBESO			<i>p</i> *
	AA (n=18)	AT (n=42)	TT (n=36)		AA (n=21)	AT (n=51)	TT (n=26)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	23,17 ± 1,62	22,17 ± 1,87	22,56 ± 1,88	0,154	37,63 ± 6,18	34,87 ± 3,86	34,67 ± 3,16	0,153
<b>CC (cm)</b>	79,19 ± 6,10	77,79 ± 7,70	80,14 ± 7,40	0,366	115,26 ± 19,09	107,82 ± 9,84	111,29 ± 15,88	0,119
<b>RCQ (cm)</b>	0,84 ± 0,08	0,82 ± 0,08	0,86 ± 0,13	0,199	0,93 ± 0,10	0,94 ± 0,08	0,95 ± 0,09	0,859
<b>DAS (cm)</b>	17,28 ± 2,68	16,39 ± 2,92	16,82 ± 3,47	0,582	24,43 ± 3,86	23,68 ± 3,07	25,15 ± 4,36	0,239
<b>PAS (mmHg)</b>	115,78 ± 11,05	117,74 ± 11,07	117,92 ± 11,86	0,788	130,24 ± 15,57	127,86 ± 13,92	127,65 ± 15,35	0,794
<b>PAD (mmHg)</b>	71,74 ± 7,25	71,79 ± 7,42	71,92 ± 8,43	0,978	81,71 ± 10,72	79,72 ± 8,85	78,88 ± 10,69	0,602
<b>PAM (mmHg)</b>	86,17 ± 8,00	87,05 ± 7,55	87,06 ± 8,95	0,918	98,33 ± 12,07	95,48 ± 10,24	95,00 ± 11,63	0,534
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	77,00 (57,75; 115,25)	71,00 (55,75; 91,25)	74,00 (63,25; 89,25)	0,635	107,00 (80,00; 164,50)	96,00 (66,50; 119,50)	135,00 (101,75; 193,00)	<b>0,012</b>
<b>Colesterol Total (mg/dl)</b>	182,00 ± 38,03	185,17 ± 38,70	178,50 ± 30,93	0,716	176,90 ± 33,45	188,88 ± 46,68	205,77 ± 44,56	0,076
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	60,78 ± 15,34	58,17 ± 13,64	57,17 ± 12,55	0,654	46,76 ± 14,65	48,06 ± 12,71	46,12 ± 11,89	0,809
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	103,78 ± 29,52	111,88 ± 33,73	105,14 ± 29,58	0,535	106,38 ± 29,24	119,40 ± 41,66	133,35 ± 40,25	0,065
<b>Leptina (µg/ml)</b>	7,45 (0,69; 13,24)	5,50 (1,27; 6,56)	6,29 (1,77; 10,15)	0,553	26,73 (7,71; 42,49)	21,52 (9,33; 30,33)	20,78 (10,62; 26,03)	0,724

*p*\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa  $P < 0,001$ .

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol LDL; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas.



**Gráfico 1:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs9939609 (*FTO*) nos grupos eutróficos e obesos para triglicerídeos.

Para o polimorfismo rs1121980 (Tabela 13), observa-se uma associação significativa com as variáveis colesterol total e colesterol LDL entre os obesos. Os gráficos 2 e 3 mostram, respectivamente, os valores mais altos de colesterol total e colesterol LDL, nos homozigotos GG no grupo de obesos.

Resultado semelhante foi observado para o polimorfismo 17817449 (Tabela 14), em relação à variável colesterol total e LDL no mesmo grupo (obesos) (Gráficos 4 e 5).

**Tabela 13:** Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs1121980 do gene *FTO* em eutróficos e obesos

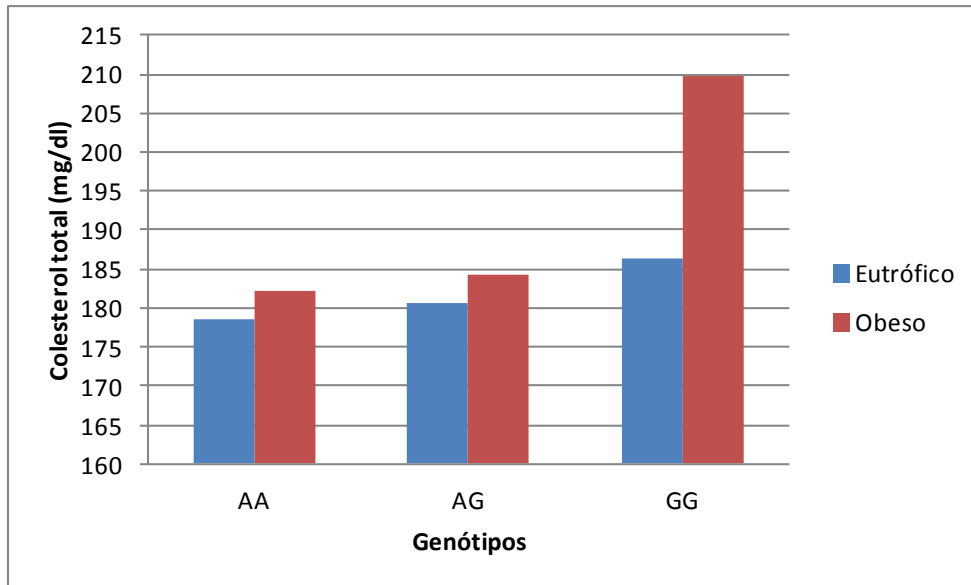
Variáveis	EUTRÓFICO			<i>p</i> *	OBESO			<i>p</i> *
	AA (n=18)	AG (n=48)	GG (n=30)		AA (24)	AG (47)	GG (27)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,64 ± 1,62	22,62 ± 1,76	22,23 ± 2,13	0,627	37,38 ± 5,30	35,68 ± 5,99	34,49 ± 4,64	0,176
<b>CC (cm)</b>	78,33 ± 6,21	79,79 ± 7,62	77,91 ± 7,49	0,510	113,90 ± 15,82	109,60 ± 13,80	109,02 ± 13,09	0,395
<b>RCQ (cm)</b>	0,82 ± 0,07	0,84 ± 0,09	0,85 ± 0,13	0,440	0,93 ± 0,09	0,94 ± 0,08	0,96 ± 0,08	0,512
<b>DAS (cm)</b>	16,75 ± 2,85	16,81 ± 3,17	16,56 ± 3,17	0,943	24,61 ± 3,71	24,03 ± 3,58	24,33 ± 3,74	0,814
<b>PAS (mmHg)</b>	117,44 ± 10,25	116,75 ± 11,10	118,53 ± 12,38	0,797	130,46 ± 14,89	125,87 ± 14,32	130,63 ± 14,23	0,282
<b>PAD (mmHg)</b>	72,79 ± 7,47	71,71 ± 7,68	71,20 ± 8,07	0,765	81,33 ± 10,93	78,53 ± 9,11	81,18 ± 9,51	0,383
<b>PAM (mmHg)</b>	87,67 ± 7,81	86,67 ± 7,83	86,77 ± 8,92	0,903	98,04 ± 11,88	94,04 ± 10,58	97,52 ± 10,47	0,241
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	71,50 (58,50; 87,00)	74,5 (60,25; 91,75)	73,00 (58,5; 91,25)	0,905	103,00 (78,00; 165,75)	95,00 (59,00; 103,00)	124,00 (97,00; 182,00)	0,058
<b>Colesterol Total (mg/dl)</b>	178,61 ± 37,35	180,75 ± 37,93	186,27 ± 30,88	0,726	182,13 ± 38,96	184,34 ± 48,07	209,81 ± 36,24	<b>0,029</b>
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	62,50 ± 16,73	55,60 ± 12,52	60,03 ± 12,35	0,125	46,43 ± 13,31	48,00 ± 13,50	46,85 ± 11,42	0,889
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	100,00 ± 26,19	109,06 ± 34,84	110,57 ± 28,31	0,495	112,04 ± 32,92	113,57 ± 42,69	137,85 ± 35,14	<b>0,020</b>
<b>Leptina (µg/ml)</b>	8,83 (1,21; 13,67)	4,89 (1,14; 6,96)	6,60 (1,51; 10,74)	0,174	25,26 (6,25; 43,83)	22,70 (10,43; 30,24)	20,46 (11,21; 25,87)	0,929

*p*\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa  $P < 0,001$ .

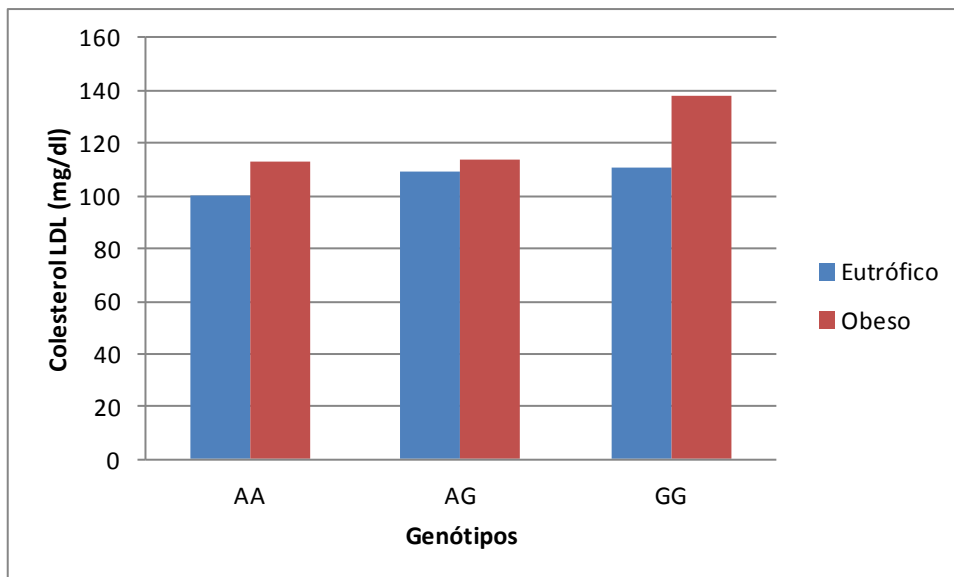
IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol LDL; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas.





**Gráfico 2:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs1121980 (*FTO*) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol total.



**Gráfico 3:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs1121980 (*FTO*) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol LDL.

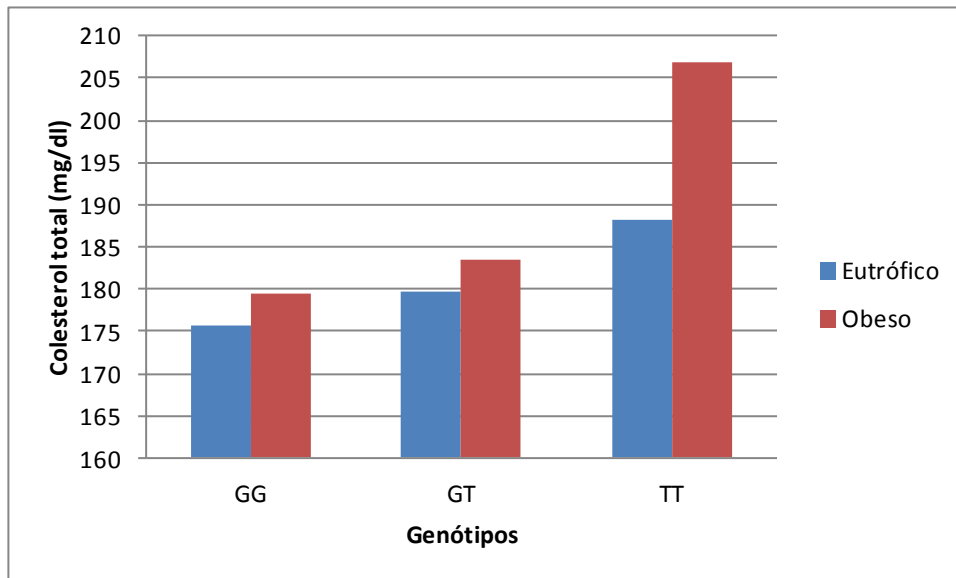
**Tabela 14:** Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs17817449 do gene *FTO* em eutróficos e obesos

Variáveis	EUTRÓFICO			<i>p</i> *	OBESO			<i>p</i> *
	GG (n=16)	GT (n=45)	TT (n=35)		GG (n= 20)	GT (n= 44)	TT (n=34)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,46 ± 1,68	22,77 ± 1,73	22,18 ± 2,05	0,370	37,14 ± 5,23	35,22 ± 4,82	35,68 ± 6,50	0,438
<b>CC (cm)</b>	76,88 ± 6,26	80,41 ± 7,25	77,97 ± 7,64	0,157	113,68 ± 16,77	108,81 ± 12,40	110,66 ± 14,64	0,460
<b>RCQ (cm)</b>	0,80 ± 0,06	0,85 ± 0,09	0,85 ± 0,13	0,246	0,93 ± 0,09	0,95 ± 0,08	0,94 ± 0,08	0,736
<b>DAS (cm)</b>	16,25 ± 2,32	17,08 ± 3,06	16,47 ± 3,42	0,552	24,31 ± 3,81	23,60 ± 3,17	25,07 ± 4,00	0,207
<b>PAS (mmHg)</b>	117,25 ± 11,16	116,91 ± 11,26	118,20 ± 11,64	0,879	128,95 ± 15,14	127,55 ± 14,52	128,91 ± 14,43	0,898
<b>PAD (mmHg)</b>	72,81 ± 7,89	71,80 ± 7,76	71,26 ± 7,72	0,802	80,40 ± 10,74	79,14 ± 9,43	80,74 ± 9,58	0,753
<b>PAM (mmHg)</b>	87,50 ± 8,40	86,76 ± 7,95	86,77 ± 8,39	0,947	97,05 ± 11,86	94,95 ± 10,98	96,68 ± 10,51	0,703
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	65,00 (48,00; 78,00)	75,00 (60,50; 93,50)	70,00 (62,00; 87,00)	0,508	103,00 (78,00; 164,00)	99,50 (61,75; 123,00)	124,00 (88,50; 183,75)	0,085
<b>Colesterol Total (mg/dl)</b>	175,69 ± 39,63	179,60 ± 37,25	188,17 ± 31,39	0,419	179,45 ± 37,18	183,50 ± 48,47	206,97 ± 38,05	<b>0,027</b>
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	61,63 ± 16,71	55,38 ± 13,26	60,49 ± 11,70	0,135	46,40 ± 13,25	47,91 ± 13,72	47,18 ± 11,58	0,906
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	98,63 ± 27,17	107,76 ± 34,66	112,14 ± 28,40	0,364	109,35 ± 32,49	113,50 ± 42,50	134,35 ± 36,55	<b>0,028</b>
<b>Leptina (µg/ml)</b>	5,77 (0,90; 13,58)	3,05 (1,21; 7,55)	5,11 (1,64; 9,23)	0,533	21,29 (7,22; 39,96)	17,16 (8,60; 30,52)	17,81 (12,11; 27,26)	0,895

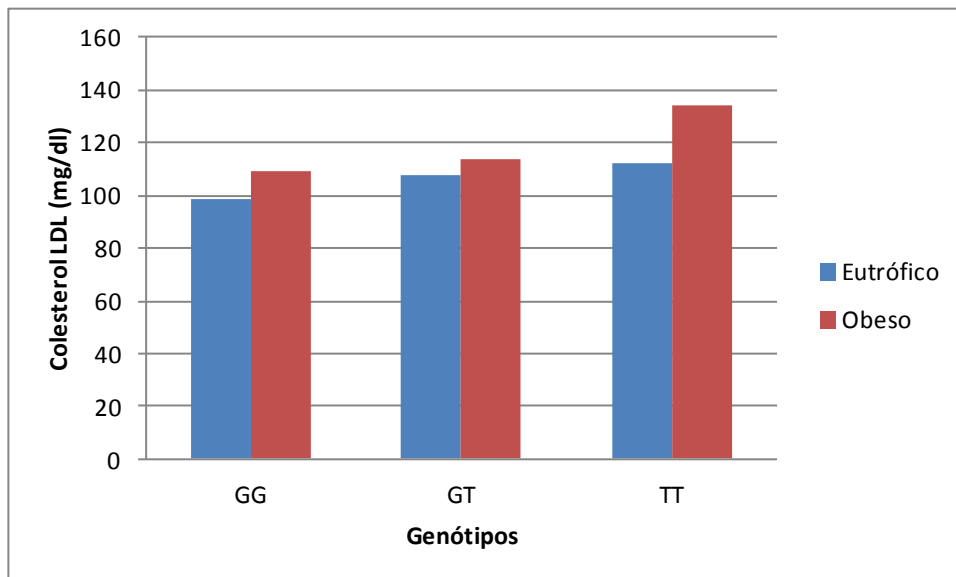
*p*\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa  $P < 0,001$

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol LDL; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas.



**Gráfico 4:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs17817449 (*FTO*) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol total.



**Gráfico 5:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs17817449 (*FTO*) nos grupos eutróficos e obesos para HDL colesterol.

## V.2.2. Gene *MC4R*

### V.2.2.1. Análise de frequências e distribuição genotípica

Na tabela 15, em relação aos polimorfismos rs17783313 e rs2229616 do gene *MC4R* observamos que não existe associação significativa com a obesidade. Visto que no polimorfismo rs2229616 o alelo mutante A é raro, não foi encontrado nenhum indivíduo homocigoto AA.

**Tabela 15:** Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene *MC4R*

Polimorfismo	Genótipo	Obesos	Eutróficos	Total	$p'$
rs2229616	GG	96 (0,98)	95 (0,99)	191	0,573
	AG	2 (0,02)	1 (0,01)	3	
	AA	0 (0,00)	0 (0,00)	0	
	<b>Total</b>	98	96	194	
	<b>P (H-W)</b>	---	---		$p''$
	<b>Alelos</b>				0,574
	A	2 (0,01)	1 (0,01)	3	
G	194 (0,99)	191 (0,99)	385		
	<b>Total</b>	196	192	388	
rs17782313	<b>Genótipo</b>				$p'$
	TT	57 (0,58)	65 (0,68)	122	0,216
	CT	35 (0,36)	29 (0,30)	64	
	CC	6 (0,06)	2 (0,02)	8	
	<b>Total</b>	98	96	194	
	<b>P (H-W)</b>	0,840	0,549		
	<b>Alelos</b>				$p''$
C	47 (0,24)	33 (0,17)	192	0,098	
T	149 (0,76)	159 (0,83)	196		
	<b>Total</b>	196	192	388	

O valor de  $p$  é referente ao  $\chi^2$  realizado para testar o equilíbrio de Hardy e Weinberg;  $p'$  é o valor da significância na comparação da distribuição genotípica entre eutróficos e obesos;  $p''$  é o valor da significância na comparação alélica entre obesos e controles.

#### **V.2.2.2. Efeito dos polimorfismos rs2229616 e rs17782313 do gene MC4R sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos**

Não foi observado nenhum resultado significativo em relação à análise de variância de classificação simples e dupla para o polimorfismo rs2229616 sobre o conjunto de variáveis antropométricas, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos. Entretanto, devemos mencionar que a frequência do alelo A, que é sugerido como alelo de proteção, é tão reduzida que no grupo de eutróficos encontramos apenas um indivíduo heterozigoto (AG) e nenhum homozigoto (AA); já no grupo dos obesos, encontramos dois heterozigotos e nenhum homozigoto.

Para o polimorfismo rs17782313 (Tabela 16) a análise realizada mostra que todas as variáveis quantitativas, exceto o colesterol total e o colesterol LDL, foram significativamente associadas ao caráter obesidade; em contrapartida, o efeito do polimorfismo foi significativo apenas nessas duas variáveis. Em relação à interação do grupo com o polimorfismo não foi observado nenhum efeito estatisticamente significativo.

**Tabela 16:** Comparação das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos x eutróficos para o polimorfismo rs17782313 do gene *MC4R*

Variáveis	EUTRÓFICO			OBESO			p*
	TT (n=65)	CT (n=29)	CC (n=2)	TT (n=57)	CT (n=35)	CC (n=6)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,43 ± 1,82	22,52 ± 1,90	24,75 ± 0,07	35,23 ± 4,96	36,19 ± 6,00	38,48 ± 7,67	0,000 <sup>a</sup> 0,210 <sup>b</sup>
CC (cm)	78,20 ± 6,77	80,04 ± 8,36	86,50 ± 0,707	110,01 ± 12,44	110,04 ± 16,52	117,68 ± 14,58	0,000 <sup>a</sup> 0,122 <sup>b</sup>
RQC	0,84 ± 0,10	0,84 ± 0,09	0,88 ± 0,01	0,95 ± 0,08	0,92 ± 0,09	0,96 ± 0,04	0,002 <sup>a</sup> 0,393 <sup>b</sup>
DAS (cm)	16,68 ± 2,99	16,59 ± 3,33	19,75 ± 1,06	24,25 ± 3,34	24,13 ± 4,06	25,08 ± 4,07	0,000 <sup>a</sup> 0,312 <sup>b</sup>
PAS (mmHg)	117,85 ± 11,55	117,14 ± 10,96	108,50 ± 2,12	129,02 ± 15,02	127,28 ± 13,18	127,67 ± 18,55	0,006 <sup>a</sup> 0,618 <sup>b</sup>
PAD (mmHg)	71,92 ± 7,74	72,03 ± 7,66	63,00 ± 2,83	79,82 ± 9,37	80,14 ± 10,35	80,00 ± 10,24	0,001 <sup>a</sup> 0,350 <sup>b</sup>
PAM (mmHg)	87,08 ± 8,14	87,07 ± 8,09	78,00 ± 2,83	95,95 ± 10,87	95,83 ± 10,80	97,17 ± 14,11	0,001 <sup>a</sup> 0,531 <sup>b</sup>
Triglicerídeos (mg/dl)	75,00 (59,50 ; 97,00)	67,00 (58,50 ; 79,50)	81,0 (79,00 ; 83,00)	109,00 (78,50 ; 151,00)	95,00 (72,00 ; 147,00)	135,00 (105,00 ; 172,00)	0,000 <sup>a</sup> 0,053 <sup>b</sup>
Colesterol Total (mg/dl)	179,63 ± 32,14	185,48 ± 40,75	212,00 ± 72,12	194,84 ± 43,10	176,71 ± 42,75	234,83 ± 25,21	0,993 <sup>a</sup> <b>0,046<sup>b</sup></b>
HDL-c (mg/dl)	56,26 ± 13,42	62,93 ± 12,90	56,50 ± 14,85	46,91 ± 12,26	47,57 ± 13,45	50,17 ± 15,90	0,001 <sup>a</sup> 0,183 <sup>b</sup>
LDL-c (mg/dl)	106,61 ± 24,86	108,37 ± 41,59	139,50 ± 57,28	123,10 ± 38,23	107,34 ± 39,14	162,50 ± 20,09	0,582 <sup>a</sup> <b>0,015<sup>b</sup></b>
Leptina (µg/ml)	3,37 (1,35 ; 8,80)	5,29 (1,24 ; 10,59)	6,21 (0,13 ; 12,30)	17,22 (9,06 ; 31,00)	18,28 (11,00 ; 30,24)	28,98 (13,24 ; 49,57)	0,000 <sup>a</sup> 0,139 <sup>b</sup>

P\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal.

IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; RQC: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: LDL- colesterol; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal ou mediana (percentil 25; percentil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

<sup>a</sup>efeito do grupo; <sup>b</sup>efeito do polimorfismo; <sup>c</sup>Interação do grupo com o polimorfismo.

Para determinar se o efeito do polimorfismo sobre tais variáveis era similar entre os grupos, foi feita uma estratificação dos mesmos e efetuamos uma análise de variância simples para cada grupo (Tabela 17). Verificamos que esse efeito sobre o colesterol total e LDL ocorre somente entre os obesos. Deve-se notar que os níveis de colesterol total e LDL mantêm um aumento progressivo (curva ascendente) entre os genótipos TT, CT e CC entre os eutróficos, fato que não se observa entre os obesos onde esses níveis caem no grupo dos heterozigotos (Gráfico 6 e 7).

**Tabela 17:** Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs17782313 do gene *MC4R* em eutróficos e obesos

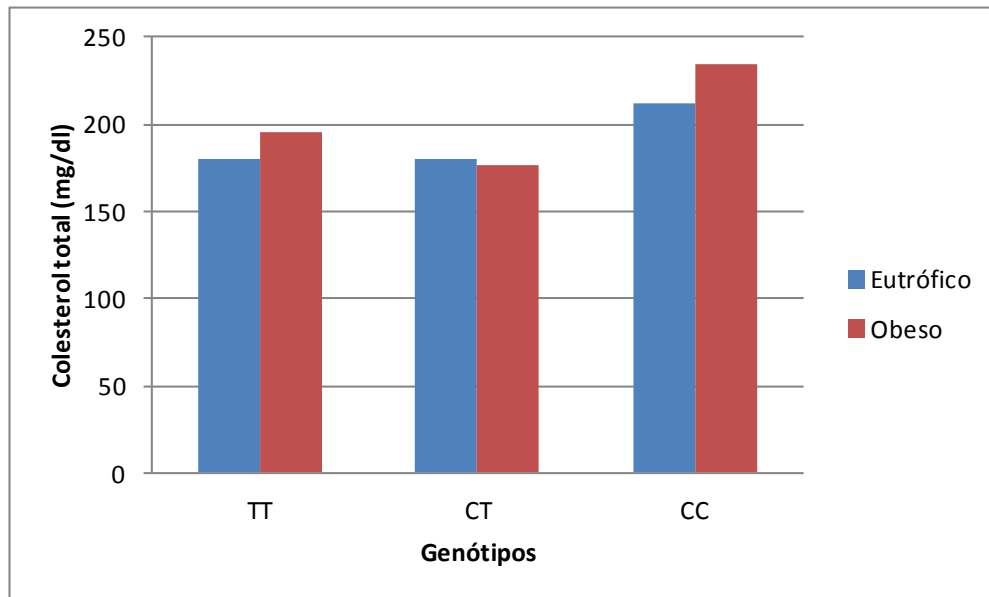
Variáveis	EUTRÓFICO			<i>p</i> *	OBESO			<i>p</i> *
	TT (n=65)	CT (n=29)	CC (n=2)		TT (n=57)	CT (n=35)	CC (n=6)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,43 ± 1,82	22,52 ± 1,90	24,75 ± 0,07	0,217	35,23 ± 4,96	36,19 ± 6,00	38,47 ± 7,67	0,340
<b>CC (cm)</b>	78,20 ± 6,78	80,04 ± 8,4	86,50 ± 0,71	0,179	110,01 ± 12,44	110,04 ± 16,52	117,67 ± 14,58	0,443
<b>RCQ (cm)</b>	0,84 ± 0,10	0,84 ± 0,10	0,88 ± 0,01	0,840	0,95 ± 0,08	0,92 ± 0,09	0,97 ± 0,04	0,244
<b>DAS (cm)</b>	16,68 ± 2,99	16,59 ± 3,33	19,75 ± 1,06	0,373	24,25 ± 3,34	24,13 ± 4,06	25,08 ± 4,07	0,840
<b>PAS (mmHg)</b>	117,85 ± 11,55	117,14 ± 10,96	108,50 ± 2,12	0,511	129,02 ± 15,02	127,26 ± 13,18	127,67 ± 67	0,849
<b>PAD (mmHg)</b>	71,92 ± 7,74	72,03 ± 7,66	63,00 ± 2,83	0,268	79,825±9,375	80,143±10,353	80,000±10,237	0,989
<b>PAM (mmHg)</b>	87,08 ± 8,14	87,07 ± 8,09	78,00 ± 2,83	0,296	95,947±10,873	95,829±10,796	97,167±14,106	0,963
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	75,0 (59,5; 97,0)	67,0 (58,5; 79,5)	81,0 (79,0; 83,0)	0,207	109 (78,5; 151,0)	95,0 (71,0; 147,0)	135,0 (105,0; 172)	0,201
<b>Colesterol Total (mg/dl)</b>	179,63 ± 32,14	185,48 ± 40,75	212,00 ± 72,12	0,374	194,84 ± 43,10	176,71 ± 42,75	234,83 ± 25,21	<b>0,006</b>
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	56,26 ± 13,42	62,93 ± 12,90	56,50 ± 14,85	0,084	46,91 ± 12,26	47,57 ± 13,45	50,17 ± 15,89	0,835
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	106,62 ± 24,85	108,38 ± 41,59	139,50 ± 57,28	0,345	123,11 ± 38,23	107,34 ± 39,14	162,50 ± 20,09	<b>0,004</b>
<b>Leptina (µg/ml)</b>	3,37 (1,35 ; 8,80)	5,29 (1,24 ; 10,59)	6,21 (0,13 ; 12,30)	0,675	17,22 (9,06 ; 31,00)	18,28 (11,00 ; 30,24)	28,98 (13,24 ; 49,57)	0,459

*p*\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa  $P < 0,001$

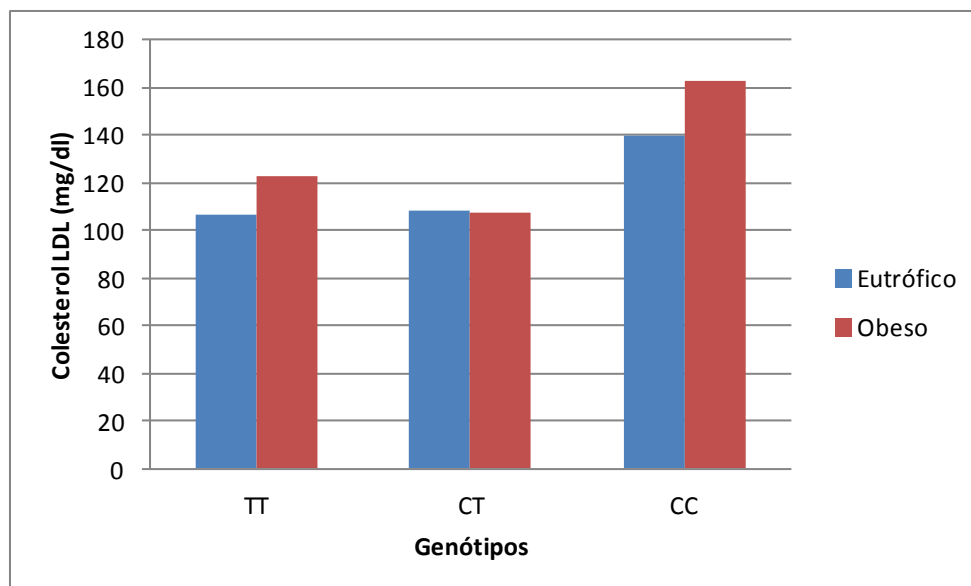
IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol LDL; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas.





**Gráfico 6:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs17782313 (*MC4R*) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol total.



**Gráfico 7:** Distribuição Genotípica do polimorfismo rs17782313 (*MC4R*) nos grupos eutróficos e obesos para colesterol LDL.

### V.2.3. Gene *PPARG*

#### V.2.3.1. Análise de frequências e distribuição genotípica

A distribuição das frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs1801282 é mostrada na tabela 18. O genótipo mais frequente deste polimorfismo foi o homocigoto (CC) em ambos os grupos. Não foi encontrado nenhum genótipo homocigoto (GG) para este polimorfismo. As análises subsequentes mostraram que não há diferenças estatisticamente significativas nas frequências genotípicas e alélicas entre os obesos e seus controles.

**Tabela 18:** Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs1801282 no gene *PPARG*

Polimorfismo	Genótipo	Obesos	Eutróficos	Total	<i>p'</i>
rs1801282	CC	89 (0,92)	83 (0,93)	172	0,650
	CG	8 (0,08)	6 (0,07)	14	
	GG	0 (0,00)	0 (0,00)	0	
	Total	97	89	186	
	<i>P</i> (H-W)	---	---		
	<b>Alelo</b>				<b><i>p''</i></b>
	C	186 (0,96)	172 (0,97)	358	0,703
	G	8 (0,04)	6 (0,03)	14	
	<b>Total</b>	194	178	372	

O valor de *p* é referente ao  $\chi^2$  realizada para testar o equilíbrio de Hardy e Weinberg; *p'* é o valor da significância na comparação da distribuição genotípica entre eutróficos e obesos; . *p''* é o valor da significância na comparação alélica entre obesos e controles.

#### V.2.3.2. Efeito do polimorfismo rs1801282 do gene *PPARG* sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos

Ao testar os efeitos do grupo (Eutróficos e Obesos) e dos genótipos deste polimorfismo (CC e CG), através de uma ANOVA de classificação dupla e simples, não observamos nenhum efeito significativo.

## V.2.4. Gene *ADRB3*

### V.2.4.1. Análise de frequências e distribuição genotípica

Conforme as distribuições genotípicas e alélicas do polimorfismo rs4994 (Tabela 19) observamos que o genótipo mais frequente é o homocigoto selvagem (TT) tanto entre os eutróficos quanto entre os obesos. Verifica-se somente um homocigoto mutado (CC) para os obesos, e nenhum para eutróficos.

Os dados apresentados mostram que não há diferenças estatisticamente significantes nas frequências genotípicas e alélicas entre ambos os grupos. Nos eutróficos não foi possível testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg por falta de graus de liberdade.

**Tabela 19:** Distribuição genotípica e alélica do polimorfismo rs4994 do gene *ADRB3*

Polimorfismo	Genótipo	Obesos	Eutróficos	Total	<i>p'</i>
rs4994	TT	74 (0,81)	39 (0,76)	112	0,550
	CT	15 (0,18)	12 (0,24)	28	
	CC	1 (0,01)	0 (0,00)	1	
	Total	90	51	141	
	<i>P</i> (H-W)	0,906	---		
	<b>Alelo</b>				<i>p''</i>
	C	17 (0,09)	12 (0,12)	29	0,538
	T	163 (0,91)	90 (0,88)	253	
	<b>Total</b>	180	102	282	

O valor de *p* é referente ao  $\chi^2$  feito para testar o equilíbrio de Hardy e Weinberg; *p'* é o valor da significância na comparação da distribuição genotípica entre eutróficos e obesos; *p''* é o valor da significância na comparação alélica entre obesos e controles.

### V.2.4.2. Efeito do polimorfismo rs4994 do gene *ADRB3* sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos

Devido à baixa frequência do homocigoto mutado (CC), as análises foram baseadas em um modelo recessivo (TT vs CT+CC) (Tabela 20). Nas análises de dupla classificação não foi encontrado nenhum resultado significativo. Entretanto, quando estratificamos as amostras (eutróficos e obesos) e realizamos uma ANOVA simples, observamos que existe um aumento significativo dos níveis de leptina nos indivíduos eutróficos que apresentam o homocigoto TT (Gráfico 8).

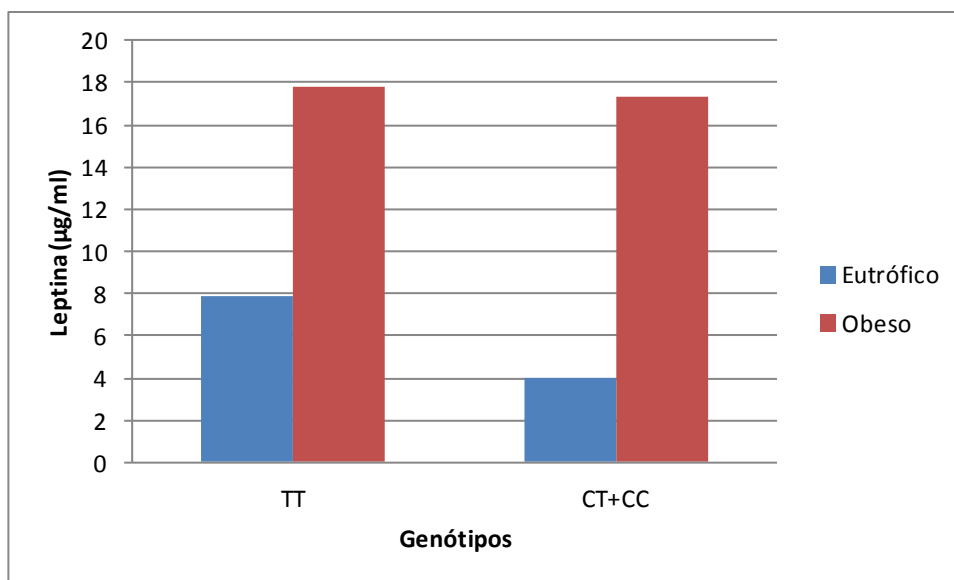
**Tabela 20:** Diferença entre as variáveis em relação ao rs4994 do gene *ADRB3* em eutróficos e obesos

Variáveis	EUTRÓFICO (n=51)		p*	OBESO (n=90)		p*
	TT (n=39)	CT + CC (n=12)		TT (n=73)	CT + CC (17)	
<b>IMC (kg/m²)</b>	22,09 ± 1,87	22,15 ± 2,04	0,921	35,66 ± 5,48	34,88 ± 4,55	0,599
<b>CC (cm)</b>	76,86 ± 7,42	79,79 ± 8,61	0,254	110,41 ± 13,24	109,41 ± 17,00	0,796
<b>RCQ (cm)</b>	0,81 ± 0,08	0,84 ± 0,11	0,203	0,94 ± 0,09	0,93 ± 0,07	0,476
<b>DAS (cm)</b>	17,12 ± 2,41	17,46 ± 3,59	0,704	24,18 ± 3,56	24,19 ± 3,43	0,991
<b>PAS (mmHg)</b>	113,21 ± 9,25	118,17 ± 11,18	0,121	129,35 ± 14,99	124,94 ± 12,28	0,275
<b>PAD (mmHg)</b>	70,46 ± 6,55	73,67 ± 7,19	0,154	80,47 ± 10,07	78,75 ± 8,07	0,524
<b>PAM (mmHg)</b>	84,69 ± 6,83	88,33 ± 8,11	0,129	96,73 ± 11,50	11,50 ± 8,50	0,341
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	75,00 (59,00; 95,00)	75,00 (62,75; 114,75)	0,673	106,50 (75,75; 154,00)	106,50 (76,25; 144,00)	0,507
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	187,15 ± 36,39	177,92 ± 31,83	0,433	192,03 ± 42,65	193,75 ± 54,54	0,890
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	62,54 ± 14,32	57,08 ± 10,76	0,230	47,07 ± 11,95	48,69 ± 16,93	0,651
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	108,08 ± 30,09	103,75 ± 27,08	0,658	121,11 ± 36,82	123,50 ± 53,62	0,830
<b>Leptina (µg/ml)</b>	7,89 (5,11; 13,05)	4,02 (1,80; 9,25)	<b>0,046</b>	17,81 (8,30; 31,59)	17,34 (8,96; 30,60)	0,634

p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001.

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol LDL; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas



**Gráfico 8:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs1801282 (*ADRB3*) nos grupos eutróficos e obesos para leptina.

## V.2.5. Gene *UCP1*

### V.2.5.1. Análise de frequências e distribuição genotípica

Dois polimorfismos do gene *UCP1* (rs12502572 e rs6536991) foram analisados e os resultados são mostrados na tabela 21. O genótipo mais frequente para o polimorfismo rs6536991 foi o heterozigoto (CT) em ambos os grupos. Por outro lado, foi observado um aumento na frequência de homozigoto TT em eutróficos (42%) em relação aos obesos (38%), porém este aumento não foi estatisticamente significativo.

Estes resultados mostram que não há diferenças estatisticamente significantes nas frequências genotípicas e alélicas entre os grupos eutróficos e obesos para nenhum dos polimorfismos (rs12502572 e rs6536991) analisados no gene *UCP1*.

**Tabela 21:** Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene *UCP1*

Polimorfismo	Genótipo	Obesos	Eutróficos	Total	<i>P'</i>
<b>rs12502572</b>	GG	27 (0,28)	31 (0,32)	58	0,607
	AG	46 (0,47)	46 (0,48)	92	
	AA	25 (0,26)	19 (0,20)	44	
	<b>Total</b>	98	96	194	
	<b>P (H-W)</b>	0,547	0,796		
	<b>Alelo</b>				<b><i>p''</i></b>
	A	96 (0,49)	84 (0,44)	180	0,302
G	100 (0,51)	108 (0,56)	208		
	<b>Total</b>	196	192	388	
<b>rs6536991</b>	<b>Genótipo</b>				<b><i>P'</i></b>
	TT	36 (0,38)	40 (0,42)	76	0,485
	CT	38 (0,40)	42 (0,44)	80	
	CC	20 (0,21)	14 (0,15)	34	
	<b>Total</b>	94	96	190	
	<b>P (H-W)</b>	0,157	0,585		
	<b>Alelo</b>				<b><i>p''</i></b>
C	78 (0,41)	70 (0,36)	148	0,315	
T	110 (0,59)	122 (0,64)	232		
	<b>Total</b>	188	192	380	

O valor de *p* é referente ao  $\chi^2$  feito para testar o equilíbrio de Hardy e Weinberg; *p'* é o valor da significância na comparação da distribuição genotípica entre eutróficos e obesos; *p''* é o valor da significância na comparação alélica entre obesos e controles.

#### **V.2.5.2. Efeito dos polimorfismos rs12502572 e rs6536991 do gene *UCP1* sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos**

Quando realizada uma ANOVA de simples e dupla classificação, não encontramos nenhum resultado significativo para o polimorfismo rs12502572. No entanto, para o polimorfismo rs6536991, encontramos resultados significantes nas duas análises realizadas.

A partir da análise de variância de classificação dupla, quando realizada a comparação concomitante das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos e eutróficos e o polimorfismo rs6536991 do gene *UCP1* (Tabela 22),

observamos que o efeito do grupo foi significativo para todas as variáveis, exceto colesterol total e colesterol LDL, entretanto, observa-se um efeito significativo desse polimorfismo sobre a circunferência da cintura, razão cintura-quadril, diâmetro abdominal sagital, colesterol total e colesterol LDL. Com exceção da variável CC, não foi observado nenhum efeito significativo da interação do grupo com o polimorfismo.

**Tabela 22:** Comparação das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos e eutróficos para o polimorfismo rs6536991 do gene *UCP1*

Variáveis	EUTRÓFICO			OBESO			p*
	TT (n=40)	CT (n=42)	CC (n=14)	TT (n=36)	CT (n=38)	CC (n=20)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,81 ± 1,68	21,95 ± 1,97	23,29 ± 1,49	37,131±5,022	34,93 ± 6,78	35,01 ± 3,80	0,000 <sup>a</sup> 0,081 <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
CC (cm)	79,76 ± 7,51	76,92 ± 7,40	82,61 ± 4,38	115,08 ± 11,55	108,17 ± 17,82	106,47 ± 8,90	<b>0,017</b> <sup>b</sup> <b>0,045</b> <sup>c</sup> 0,000 <sup>a</sup>
RQC	0,85 ± 0,12	0,82 ± 0,08	0,84 ± 0,05	0,96 ± 0,09	0,92 ± 0,08	0,94 ± 0,09	0,000 <sup>a</sup> <b>0,035</b> <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
DAS (cm)	17,11 ± 3,25	15,87 ± 2,92	18,143±2,413	25,00 ± 3,45	23,78 ± 4,24	23,72 ± 2,87	0,000 <sup>a</sup> <b>0,041</b> <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
PAS (mmHg)	117,35 ± 10,73	116,74 ± 12,03	119,786±10,963	126,94 ± 13,73	129,74 ± 13,56	129,30 ± 17,71	0,000 <sup>a</sup> 0,708 <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
PAD (mmHg)	70,87 ± 8,35	71,98 ± 7,50	73,714±6,378	79,72 ± 9,57	79,84 ± 10,52	80,85 ± 8,82	0,000 <sup>a</sup> 0,796 <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
PAM (mmHg)	86,30 ± 8,22	86,71 ± 8,26	89,071±7,478	95,36 ± 10,93	96,26 ± 10,88	97,25 ± 11,61	0,000 <sup>a</sup> 0,670 <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
Triglicéridos (mg/dl)	75,50 (66,00; 88,50)	64,50 (45,00; 99,25)	72,50 (64,75; 125,5)	105,50 (75,50; 155,75)	100,50 (75,25; 139,25)	119,50 (81,25; 196,00)	0,000 <sup>a</sup> 0,828 <sup>b</sup> 0,933 <sup>a</sup>
Colesterol (mg/dl)	183,75 ± 29,67	172,48 ± 33,38	206,071±46,653	188,17 ± 40,46	188,23 ± 37,97	205,65 ± 58,37	<b>0,010</b> <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup> 0,341 <sup>b</sup>
HDL-c (mg/dl)	59,47 ± 12,16	57,09 ± 13,93	58,429±16,322	45,81 ± 13,94	50,74 ± 12,80	44,75 ± 10,67	0,375 <sup>a</sup> <b>0,005</b> <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
LDL-c (mg/dl)	108,15 ± 27,05	100,12 ± 28,28	130,07 ± 41,71	119,83 ± 35,56	114,87 ± 35,77	132,75 ± 51,83	0,000 <sup>a</sup> 0,120 <sup>b</sup>
Leptina (µg/ml)	5,35 (1,40; 11,65)	3,10 (1,41; 7,97)	3,0 (0,71; 15,47)	21,34 (12,09; 34,16)	18,01 (6,37; 30,02)	15,86 (4,30; 25,11)	

p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001

IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; RQC: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDI-c: LDL- colesterol; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal ou mediana (percentil 25; percentil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

<sup>a</sup>efeito do grupo; <sup>b</sup>efeito do polimorfismo; <sup>c</sup>Interação do grupo com o polimorfismo.



Para verificar se o efeito do polimorfismo sobre as mesmas variáveis eram similares entre os grupos, foi realizada uma ANOVA de classificação simples (Tabela 23) estratificando os grupos em eutróficos e obesos.

Observamos que o efeito dos polimorfismos em relação às variáveis se manifestava em ambos os grupos. Entre os eutróficos, associações significativas foram encontradas para circunferência de cintura, DAS, colesterol total e LDL para o genótipo CC (gráficos 9, 10, 11 e 12), e entre os obesos, somente a circunferência da cintura foi significativa para o genótipo TT (gráfico 9).

Quando realizada a estratificação o efeito verificado do polimorfismo sobre a RCQ desaparece. Nota-se que nesta análise as médias de RCQ, tanto nos eutróficos como nos obesos, são homogêneas entre os genótipos e, portanto só existe uma diferença significativa entre os grupos (Tabela 8) e/ou um efeito de interação (Tabela 22).

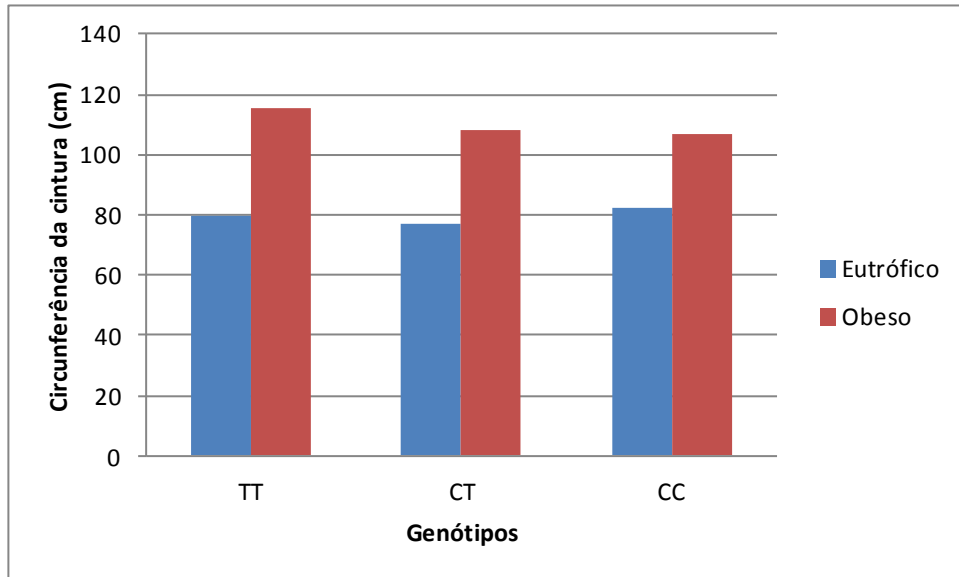
**Tabela 23:** Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo rs6536991 do gene *UCP1* em eutróficos e obesos.

Variáveis	EUTRÓFICO			P*	OBESO			P*
	TT (n=40)	CT (n=42)	CC (n=14)		TT (n=36)	CT (n=38)	CC (n=20)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,81 ± 1,68	21,95 ± 1,97	23,29 ± 1,49	0,197	37,13 ± 5,02	34,93 ± 6,78	35,01 ± 3,80	0,193
<b>CC (cm)</b>	79,76 ± 7,51	76,92 ± 7,40	82,61 ± 4,39	<b>0,025</b>	115,08 ± 11,58	108,17 ± 17,83	106,48 ± 8,90	<b>0,043</b>
<b>RCQ (cm)</b>	0,85 ± 0,12	0,82 ± 0,08	0,84 ± 0,05	0,410	0,96 ± 0,09	0,93 ± 0,08	0,94 ± 0,09	0,215
<b>DAS (cm)</b>	17,11 ± 3,25	15,87 ± 2,92	18,14 ± 2,41	<b>0,031</b>	25,00 ± 3,45	23,79 ± 4,24	23,73 ± 2,87	0,292
<b>PAS (mmHg)</b>	117,35 ± 10,73	116,74 ± 12,03	119,79 ± 10,96	0,685	126,94 ± 13,73	129,74 ± 13,56	129,30 ± 17,71	0,692
<b>PAD (mmHg)</b>	70,88 ± 8,35	71,98 ± 7,50	73,71 ± 6,38	0,486	79,72 ± 9,57	79,84 ± 10,52	80,85 ± 8,82	0,910
<b>PAM (mmHg)</b>	86,30 ± 8,23	86,71 ± 8,26	89,07 ± 7,48	0,541	95,36 ± 10,93	96,26 ± 10,88	97,25 ± 11,61	0,825
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	75,50 (66,00; 88,50)	64,50 (45,00; 99,25)	72,50 (64,75; 125,50)	0,247	105,50 (75,5; 155,75)	100,50 (75,25; 139,25)	119,50 (81,25; 196,00)	0,247
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	183,75 ± 29,67	172,48 ± 33,38	206,07 ± 46,65	<b>0,007</b>	188,17 ± 40,46	188,29 ± 37,97	205,65 ± 58,37	0,294
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	59,48 ± 12,17	57,10 ± 13,93	58,43 ± 16,32	0,731	45,81 ± 13,94	50,74 ± 12,80	44,75 ± 10,67	0,145
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	108,15 ± 27,05	100,12 ± 28,28	130,07 ± 41,71	<b>0,007</b>	119,83 ± 35,56	114,87 ± 35,77	132,75 ± 51,83	0,265
<b>Leptina (µg/ml)</b>	5,35 (1,40; 11,65)	3,10 (1,41; 7,97)	3,0 (0,71; 15,47)	0,478	21,34 (12,09; 34,16)	18,01 (6,37; 30,02)	15,86 (4,30; 25,11)	0,478

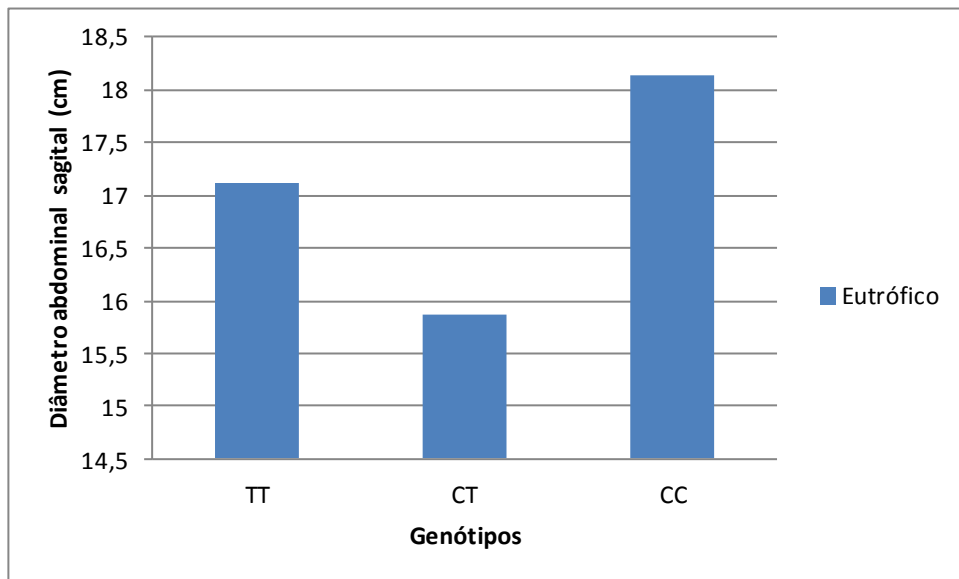
p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001.

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol

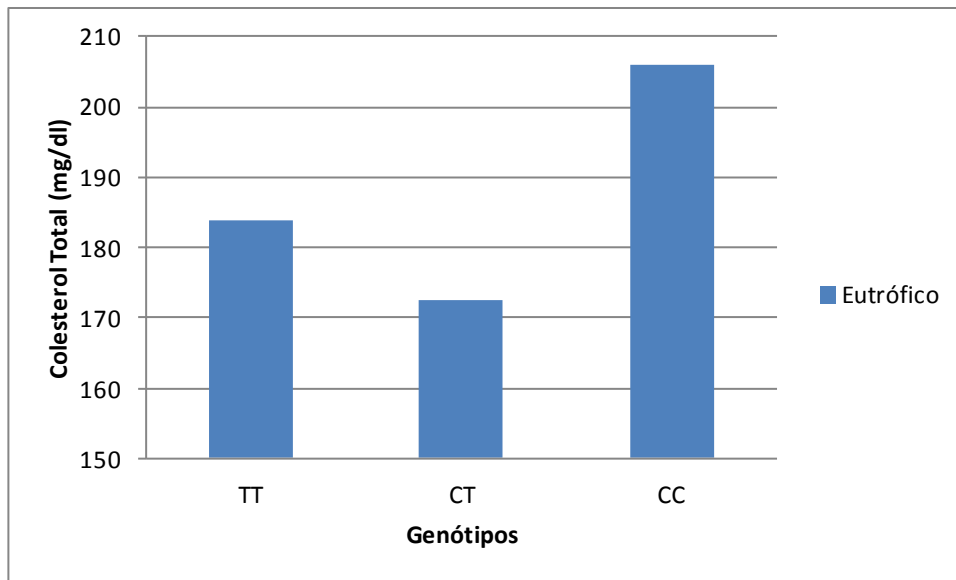
LDL; HDL-c: colesterol HDL. Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas.



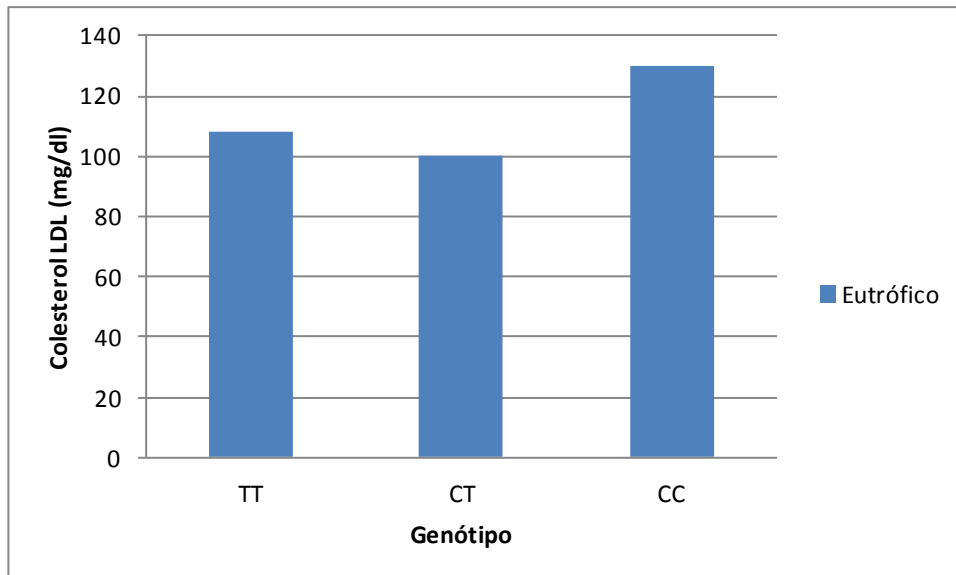
**Gráfico 9:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 (*UCP1*) nos grupos eutróficos e obesos para circunferência da cintura.



**Gráfico 10:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 (*UCP1*) no grupo eutrófico para diâmetro abdominal sagital.



**Gráfico 11:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 (*UCP1*) no grupo eutrófico para colesterol total.



**Gráfico 12:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs6536991 (*UCP1*) no grupo eutrófico para colesterol LDL.

## **V.2.6. Gene *LEPR***

### **V.2.6.1. Análise de frequências e distribuição genotípica**

Na tabela 24 são mostradas as frequências genotípicas e alélicas para os três polimorfismos analisados no gene *LEPR*.

Podemos observar que para o polimorfismo rs1805094 o genótipo mais frequente é o homocigoto selvagem (GG) tanto entre os eutróficos como entre os obesos; da mesma forma no polimorfismo rs1137100, o alelo selvagem em homocigose (AA) é o mais frequente em ambos os grupos. Já para o polimorfismo rs1137101 o genótipo mais frequente entre os obesos foi o heterocigoto (AG), enquanto que entre os eutróficos o homocigoto AA e o heterocigoto AG se apresentam com frequências iguais (41%). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas frequências genotípicas e alélicas entre eutróficos e obesos para os três polimorfismos analisados.

**Tabela 24:** Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos no gene *LEPR*

Polimorfismo	Genótipo	Obesos	Eutróficos	Total	$p'$
rs1805094	GG	58 (0,60)	47 (0,51)	105	0,368
	CG	36 (0,37)	40 (0,43)	76	
	CC	3 (0,03)	6 (0,06)	9	
	Total	97	93	190	
	$P$ (H-W)	0,355	0,513		
	<b>Alelo</b>				$p''$
	C	42 (0,22)	52 (0,28)	94	0,154
G	152 (0,78)	134 (0,72)	286		
Total	194	186	380		
rs1137100	<b>Genótipo</b>				$p'$
	AA	67 (0,68)	65 (0,68)	132	0,918
	AG	27 (0,28)	28 (0,29)	55	
	GG	4 (0,04)	3 (0,03)	7	
	Total	98	96	194	
	$P$ (H-W)	0,547	0,994		
	<b>Alelo</b>				$p''$
A	161 (0,82)	158 (0,82)	319	0,154	
G	35 (0,18)	34 (0,18)	69		
Total	196	192	388		
rs1137101	<b>Genótipo</b>				$p'$
	AA	26 (0,27)	39 (0,41)	65	0,090
	AG	52 (0,53)	39 (0,41)	91	
	GG	20 (0,20)	16 (0,17)	36	
	Total	98	94	192	
	$P$ (H-W)	0,518	0,255		
	<b>Alelo</b>				$p''$
A	104 (0,53)	117 (0,62)	221	0,069	
G	92 (0,47)	71 (0,38)	163		
Total	196	188	384		

O valor de  $p$  é referente ao  $\chi^2$  feito para testar o equilíbrio de Hardy e Weinberg;  $p'$  é o valor da significância na comparação da distribuição genotípica entre eutróficos e obesos;  $p''$  é o valor da significância na comparação alélica entre obesos e controles.

#### **V.2.6.2. Efeito dos polimorfismos rs1805094, rs1137100 e rs1137101 do gene *LEPR* sobre os índices antropométricos, níveis pressóricos e marcadores bioquímicos**

Quando realizada análise de variância de classificação simples e dupla para os polimorfismos rs1805094 e rs1137100, não foi observado nenhum resultado estatisticamente significativo.

A análise simultânea dos efeitos dos grupos e do polimorfismo rs11371701 do gene *LEPR* sobre o grupo de variáveis quantitativas (tabela 25) mostrou que o efeito do grupo foi significativo para todas as variáveis, exceto colesterol total e colesterol LDL. Entretanto, para as variáveis RCQ, DAS, PAS, PAM e colesterol LDL, notamos um efeito estatisticamente significativo do polimorfismo. Além disso, a interação do grupo com o polimorfismo mostrou efeitos significantes sobre as variáveis PAS, PAD e PAM.

**Tabela 25:** Comparação das variáveis quantitativas entre os genótipos de obesos e eutróficos para o polimorfismo rs1137101 do gene *LEPR*

Variáveis	EUTRÓFICO			OBESO			P*
	AA (n=39)	AG (n=39)	GG (16)	AA (n=26)	AG (n=52)	GG (n=20)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,34 ± 1,99	22,65 ± 1,86	22,46 ± 1,61	34,47 ± 3,44	36,29 ± 5,79	36,13 ± 6,88	0,000 <sup>a</sup> 0,318 <sup>b</sup>
CC (cm)	78,39 ± 7,19	79,93 ± 7,09	77,75 ± 8,65	107,75 ± 14,15	112,29 ± 13,03	109,38 ± 16,69	0,000 <sup>a</sup> 0,230 <sup>b</sup>
RQC	0,82 ± 0,09	0,86 ± 0,12	0,83 ± 0,09	0,92 ± 0,09	0,96 ± 0,08	0,92 ± 0,08	0,000 <sup>a</sup> <b>0,016<sup>b</sup></b>
DAS (cm)	15,97 ± 3,15	16,97 ± 2,62	17,34 ± 3,54	23,04 ± 3,04	24,77 ± 3,64	24,50 ± 4,09	0,000 <sup>a</sup> <b>0,023<sup>b</sup></b> 0,000 <sup>a</sup>
PAS (mmHg)	117,41 ± 13,20	117,51 ± 10,53	116,81 ± 7,74	121,35 ± 14,13	132,48 ± 12,16	126,50 ± 17,18	<b>0,009<sup>b</sup></b> <b>0,043<sup>c</sup></b> 0,000 <sup>a</sup>
PAD (mmHg)	72,59 ± 8,34	70,33 ± 7,43	73,44 ± 6,74	77,73 ± 8,60	82,54 ± 8,51	76,10 ± 12,10	0,227 <sup>b</sup> <b>0,011<sup>c</sup></b> 0,000 <sup>a</sup>
PAM (mmHg)	87,33 ± 9,44	85,97 ± 7,42	87,87 ± 6,35	92,00 ± 9,97	99,19 ± 9,55	92,80 ± 13,19	<b>0,045<sup>b</sup></b> <b>0,015<sup>c</sup></b> 0,000 <sup>a</sup>
Triglicerídeos (mg/dl)	77,00 (60,00; 91,00)	65,00 (53,00; 83,00)	73,50 (67,00; 96,50)	93,50 (59,00; 132,50)	110,50 (88,25; 153,00)	99,50 (68,25; 136,00)	0,386 <sup>b</sup> 0,702 <sup>a</sup>
Colesterol (mg/dl)	177,87 ± 29,87	180,18 ± 41,26	198,63 ± 32,72	178,35 ± 34,48	196,89 ± 45,35	191,25 ± 50,42	0,057 <sup>b</sup> 0,000 <sup>a</sup>
HDL-c (mg/dl)	59,77 ± 14,46	55,31 ± 13,23	62,50 ± 11,20	49,08 ± 16,50	46,64 ± 11,64	46,95 ± 10,44	0,411 <sup>b</sup> 0,499 <sup>a</sup>
LDL-c (mg/dl)	101,95 ± 25,46	109,69 ± 38,88	118,87 ± 22,30	109,65 ± 32,13	124,25 ± 41,21	121,85 ± 43,96	<b>0,050<sup>b</sup></b> 0,000 <sup>a</sup>
Leptina (µg/ml)	3,13 (1,33; 9,23)	3,93 (1,53; 8,44)	6,59 (2,50; 12,92)	17,60 (11,70; 31,22)	17,22 (6,55; 31,72)	20,58 (7,54; 30,09)	0,462 <sup>b</sup>

p\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa P < 0,001

IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; RQC: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: LDL- colesterol; HDL-c: colesterol HDL.

Os valores representam média ± desvio padrão para variáveis com distribuição normal ou mediana (percentil 25; percentil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

<sup>a</sup>efeito do grupo; <sup>b</sup>efeito do polimorfismo; <sup>c</sup>Interação do grupo com o polimorfismo.



Foi realizado um teste de variância de classificação simples, estratificando os grupos, a fim de verificar se o efeito do polimorfismo sobre as variáveis era semelhante entre os grupos. Os resultados podem ser visualizados na tabela 26, onde verificamos esse efeito significativo nos níveis pressóricos (PAD, PAS e PAM) somente no grupo obeso. O heterozigoto (AG) parece estar influenciando no aumento dos níveis pressóricos (Gráficos 13, 14 e 15).

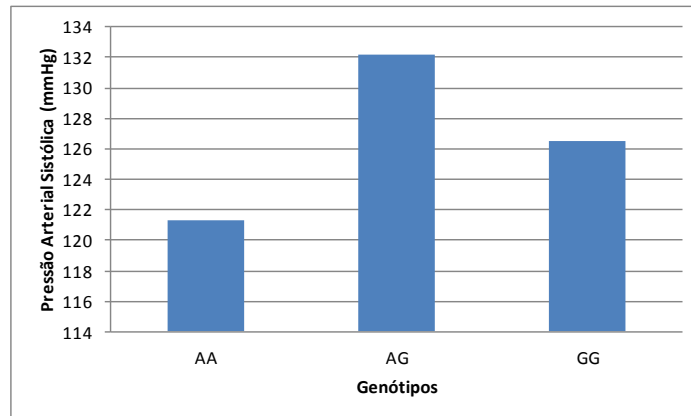
**Tabela 26:** Diferença entre as variáveis em relação ao polimorfismo 1137101 do gene *LEPR* em eutróficos e obesos.

Variáveis	EUTRÓFICO			<i>p</i> *	OBESO			<i>P</i> *
	AA (n=39)	AG (n=39)	GG (n=16)		AA (n= 26)	AG (n= 52)	GG (n=20)	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	22,34 ± 1,99	22,65 ± 1,86	22,46 ± 1,61	0,761	34,47 ± 3,44	36,29 ± 5,79	36,13 ± 6,88	0,375
<b>CC (cm)</b>	78,39 ± 7,19	79,93 ± 7,09	77,75 ± 8,65	0,521	107,75 ± 14,15	112,29 ± 13,03	109,38 ± 16,69	0,381
<b>RCQ (cm)</b>	0,82 ± 0,09	0,86 ± 0,12	0,83 ± 0,09	0,276	0,92 ± 0,09	0,96 ± 0,08	0,92 ± 0,08	0,127
<b>DAS (cm)</b>	15,97 ± 3,15	16,97 ± 2,62	17,34 ± 3,54	0,200	23,04 ± 3,04	24,77 ± 3,64	24,50 ± 4,09	0,132
<b>PAS (mmHg)</b>	117,41 ± 13,20	117,51 ± 10,53	116,81 ± 7,74	0,928	121,35 ± 14,13	132,48 ± 12,16	126,50 ± 17,12	<b>0,004</b>
<b>PAD (mmHg)</b>	72,59 ± 8,34	70,33 ± 7,43	73,44 ± 6,74	0,287	77,73 ± 8,60	82,54 ± 8,51	76,10 ± 12,10	<b>0,015</b>
<b>PAM (mmHg)</b>	87,33 ± 9,44	85,97 ± 7,42	87,88 ± 6,35	0,660	92,00 ± 9,97	99,19 ± 9,55	92,80 ± 13,19	<b>0,007</b>
<b>Triglicerídeos (mg/dl)</b>	77,00 (60,00; 91,00)	65,00 (53,00; 83,00)	73,50 (67,00; 96,50)	0,218	93,50 (59,00; 132,50)	110,50 (88,25; 153,00)	99,50 (68,25; 136,00)	0,182
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	177,87 ± 29,87	180,18 ± 41,26	198,63 ± 32,72	0,133	178,35 ± 34,48	196,88 ± 45,35	191,25 ± 50,42	0,218
<b>HDL-c (mg/dl)</b>	59,77 ± 14,46	55,31 ± 13,23	62,50 ± 11,20	0,145	49,08 ± 16,49	46,63 ± 11,64	46,95 ± 10,44	0,725
<b>LDL-c (mg/dl)</b>	101,95 ± 25,46	109,69 ± 38,88	118,88 ± 22,30	0,181	109,65 ± 32,13	124,25 ± 41,21	121,89 ± 43,96	0,304
<b>Leptina (µg/ml)</b>	3,13 (1,33; 9,23)	3,93 (1,53; 8,44)	6,59 (2,50; 12,92)	0,412	17,60 (11,70; 31,22)	17,22 (6,55; 31,72)	20,58 (7,54; 30,09)	0,920

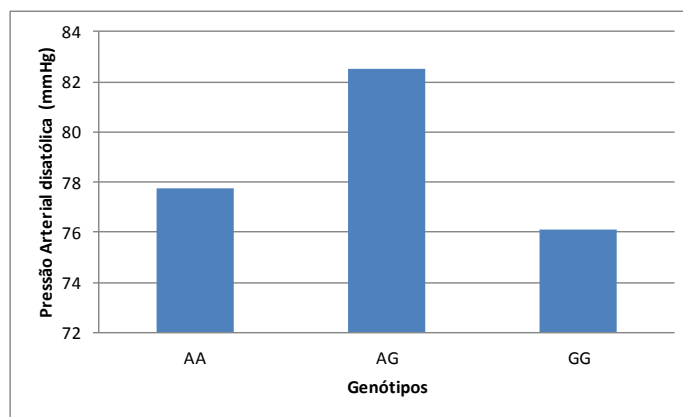
*p*\* é o valor probabilístico usado para medir a significância das diferenças entre as médias das variáveis com a distribuição normal e das diferenças entre as medianas das variáveis sem distribuição normal, onde 0,000 significa *P* < 0,001.

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão cintura/quadril; DAS: Diâmetro sagital abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; PAM: Pressão arterial média; LDL-c: colesterol LDL; HDL-c: colesterol HDL.

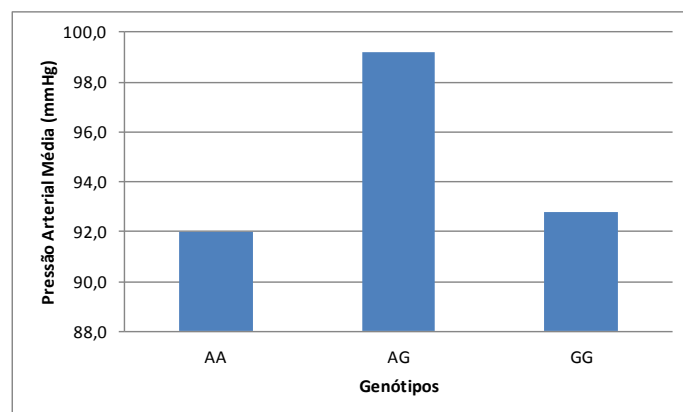
Os valores representam a média ± desvio padrão para os polimorfismos em relação às variáveis paramétricas e mediana (percentil 25; percentil 75) para variáveis não paramétricas.



**Gráfico 13:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs1127301 (*LEPR*) no grupo de obesos para pressão arterial sistólica.



**Gráfico 14:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs1127301 (*LEPR*) nos grupos de obesos para pressão arterial diastólica.



**Gráfico 15:** Distribuição genotípica do polimorfismo rs1127301 (*LEPR*) no grupo de obesos para pressão arterial média.

### V. 3. Análise multivariada

Uma abordagem diferente no estudo da obesidade foi verificar os graus de relacionamento e interação entre as diversas variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas de alguma forma relacionadas com o desenvolvimento da obesidade. Isto foi feito através de análises de regressão multivariada, seguindo o padrão abaixo:

#### V. 3.1. Análise do Índice de Massa Corporal (IMC)

O melhor modelo, que apresenta o conjunto de variáveis independentes com efeitos significativos sobre a variabilidade do IMC, é mostrado na tabela 27. O Coeficiente de Determinação deste modelo ( $R^2$  ajustado) mostra que essas variáveis independentes respondem por 90% da variação do IMC.

**Tabela 27:** Modelo final de regressão múltipla para IMC com todas as variáveis

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,949	0,901	0,899	2,477	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	10842,732	5,000	2168,546	353,395	0,000
Resíduo	1190,448	194,000	6,136		
Total	12033,180	199,000			

Preditores: Intercepto, Circunferência da cintura (CC), razão cintura/quadril (RCQ), diâmetro abdominal sagital (DAS), leptina.

Nesse modelo observamos que a CC, DAS e Leptina estão relacionadas positivamente com o IMC, enquanto que a RCQ e a Idade apresentam uma associação negativa (Tabela 28). Pode-se observar que as influências dessas variáveis sobre o IMC seguem decrescentemente a seguinte ordem: CC, DAS, RCQ, Leptina e Idade.

**Tabela 28:** Coeficiente de regressão do modelo final para IMC com todas as variáveis

Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		Coeficientes padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	3,758	1,525		2,464	0,015
CC (cm)	0,340	0,021	0,843	16,559	0,000
RCQ	-13,851	2,543	-0,186	-5,447	0,000
DAS (cm)	0,297	0,068	0,192	4,374	0,000
Leptina (ng/dL)	0,051	0,015	0,102	3,462	0,001
Idade (anos)	-0,037	0,019	-0,050	-2,004	0,046

Preditores: Constante, Circunferência da cintura (CC), razão cintura/quadril (RCQ), diâmetro abdominal sagital (DAS), leptina, idade.

b: coeficiente de regressão parcial; Beta: coeficiente de regressão parcial padronizado; t: prova do t- Student; p: significância do teste.

## V. 2.2. Efeito dos polimorfismos genéticos sobre o IMC

A tabela 29 apresenta a ANOVA ( $p = 0,001$ ) do modelo final de regressão que inclui os polimorfismos que apresentam efeitos significativos em relação ao IMC. Esse modelo responde por um coeficiente de determinação de  $R^2$  (ajustado) que é igual a 10,5%.

**Tabela 29:** Modelo final de regressão múltipla do IMC em polimorfismos

	R	$R^2$	$R^2$ ajustado	Erro Padrão	
	0,354	0,125	0,105	7,473	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	1029,051	3,000	343,017	6,142	0,001
Resíduo	7204,190	129,000	55,846		
Total	8233,241	132,000			

Preditores: (Constante), Idade, rs1137101 (LEPR), rs1801282 (PPARG).

No modelo apresentado a seguir observamos o efeito dos polimorfismos que estão relacionados positivamente com o IMC, onde a presença do alelo G no polimorfismo rs1137101 aumenta o índice de massa corporal em 3,62 unidades, já a presença do alelo G no polimorfismo rs1801282 aumenta esse índice em 5,18 unidades (Tabela 30).

**Tabela 30:** Coeficiente de regressão do modelo final para índice de massa corporal (IMC) sobre polimorfismos

Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizado	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	21,622	2,598		8,322	0,000
Idade (anos)	0,172	0,065	0,221	2,658	0,009
rs1137101 ( <i>LEPR</i> )	3,619	1,417	0,211	2,555	0,012
rs1801282 ( <i>PPARG</i> )	5,176	2,472	0,173	2,094	0,038

Preditores: (Constante), Idade, rs1137101 (*LEPR*), rs1801282 (*PPARG*).

Dada à extensão e o número de tabelas resultantes das análises, as mesmas foram resumidas em duas tabelas. Na primeira (tabela 31) são mostradas as relações estatisticamente significantes existentes entre as diversas variáveis antropométricas, pressóricas e marcadores bioquímicos (medidas através dos coeficientes de regressão parciais - b); na segunda (tabela 32), são apresentados os efeitos dos polimorfismos genéticos sobre o conjunto de variáveis quantitativas. Os resultados do melhor modelo de regressão múltipla (método *stepwise*) são apresentados em linhas, onde na primeira são mostrados os coeficientes de regressão e na segunda a significância dos mesmos (*p-value*). Na última linha encontram-se os Coeficientes de Determinação do modelo de regressão ( $R^2$ ) para cada variável dependente. As tabelas completas, referentes ao resumo aqui apresentado são mostradas nos anexos (C ao M).

Uma visualização geral da tabela 31, considerando os coeficientes de regressão significativos, mostra um agrupamento de variáveis relacionadas. Assim, um desses grupos é constituído pelo IMC, CC, RCQ e DAS que são características antropométricas associadas à obesidade.

Um segundo grupo é formado pelas variáveis pressóricas (PAS, PAD e PAM) e um terceiro formado pelos marcadores bioquímicos (Colesterol Total, LDL e HDL). A variável leptina aparece associada ao IMC, RCQ e HDL. Deve-se mencionar que todas as variáveis usadas como dependentes foram corrigidas pela idade.

**Tabela 31:** Resumo das Análises das relações entre as variáveis quantitativas através de regressões múltiplas.

Variável independente	VARIÁVEIS DEPENDENTES											
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	CC (cm)	RCQ (cm)	DAS (cm)	Leptina (µg/ml)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	Triglicerídeos (mg/dl)	Colest T (mg/dl)	HDL-c (mg/dl)	LDL-c (mg/dl)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )		1,755 0,000	-0,001 0,000	0,316 0,000	1,576 0,000							
CC (cm)	0,340 0,000		0,007 0,000	0,078 0,015								
RCQ (cm)	-13,851 0,000	47,558 0,000		5,792 0,027	-29,491 0,003							
DAS (cm)	47,548 0,000	0,388 0,015	0,004 0,002									
Leptina	0,051 0,001		-0,002 0,000									
PAS (mmHg)							-0,402 0,000	0,326 0,000				
PAD (mmHg)						-1,660 0,000		0,687 0,000				
PAM (mmHg)						2,638 0,000	1,347 0,000					
Triglicerídeos (mg/dl)										0,201 0,000	-0,194 0,000	-0,201 0,000
Colestesterol (mg/dl)									4,611 0,000		0,947 0,000	1,004 0,000
HDL-c (mg/dl)					0,252 0,000				-4,764 0,000	1,013 0,000		-1,017 0,000
LDL-c (mg/dl)									-4,534 0,000	0,989 0,006	-0,936 0,000	
Idade (anos)	-0,037 0,046	0,053 0,207	0,001 0,009	0,033 0,085	0,074 0,396	0,020 0,449	0,011 0,382	-0,001 0,893	0,048 0,624	0,001 0,998	0,001 0,964	0,005 0,820
R <sup>2</sup> ajustado (%)	90	91,7	61,2	75,2	47,1	94,4	97,1	98,8	94,3	99,5	96,4	99,4

Legenda: Primeira linha: coeficientes de regressão (b); Segunda linha: significância dos mesmos (p-value); (R2): Coeficientes de Determinação do modelo de regressão

Os resultados das análises de regressão múltipla, apresentados na tabela 32, para estudo dos efeitos dos diversos polimorfismos sobre as características fenotípicas relacionadas com a obesidade, mostram que os polimorfismos dos genes *PPARG* (rs1801282), *LEPR* (rs1137101) e *FTO* (17817449) apresentam efeitos significativos sobre tais características.

Assim a presença do alelo G no polimorfismo rs1801282 do gene *PPARG* seria responsável pelo aumento, tanto do IMC como dos níveis de leptina. Da mesma forma, a presença do alelo G no polimorfismo rs1137101 do gene *LEPR* provoca o incremento nos valores do IMC, CC, DAS, PAS e PAM. Para o polimorfismo rs17817449 do gene *FTO*, a associação com colesterol total e LDL é atribuível à presença do alelo T.



**Tabela 32:** Resumo dos resultados das regressões múltiplas efetuadas para os polimorfismos.

Variável Independente	V A R I Á V E I S D E P E N D E N T E S											
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	CC (cm)	RCQ (cm)	DAS (cm)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	PAM (mmHg)	Triglic (mg/dl)	Colest T (mg/dl)	HDL-c (mg/dl)	LDL-c (mg/dl)	Leptina (µg/ml)
<b>rs1801282 (PPARG)</b>	5,176											10,751
	0,038											0,044
<b>rs1137101 (LEPR)</b>	3,619	8,653	0,041	2,609	8,560		5,043					
	0,012	0,014	0,023	0,002	0,000		0,006					
<b>rs17817449 (FTO)</b>									-19,052		-15,602	
									0,010		0,019	
<b>Idade (anos)</b>	0,172	0,713	0,004	0,157	0,672	0,446	0,539	1,596	1,066	-0,129	0,896	0,131
	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002	0,318	0,004	0,345
<b>R<sup>2</sup> ajustado (%)</b>	10,5	14,9	19,7	15,8	26,1	20,9	26,2	6,2	10,5	0	8,9	2,6

Legenda: Primeira linha: coeficientes de regressão (b); Segunda linha: significância dos mesmos (p-value); (R<sup>2</sup>): Coeficientes de Determinação do modelo de regressão.  
 Recodificação: rs1801282 (PPARG): GG = 0; CC+CG = 1; rs1137101(LEPR) AA=0; AG+GG = 1; rs17817449 (FTO): TT = 0; GT+GG= 1.

## VI. DISCUSSÃO

A industrialização e as suas consequências econômicas modificaram os hábitos de vida adotados pelo homem, e o sedentarismo e o consumo de alimentos com alto teor de gordura e baixo gasto energético, contribuem para um cenário obesogênico. Apesar de a população viver em ambientes cada vez mais obesogênicos, parte dessa não tem alteração no peso corporal. Este fato destaca que as diferenças observadas na regulação do peso corporal não são somente relacionadas à mudança no estilo de vida, mas também pela predisposição genética à obesidade.

O cenário atual da obesidade mundial tem chamado à atenção da comunidade científica com a intenção de entender os mecanismos envolvidos nesta doença complexa, que levam a inúmeras comorbidades, afetando a qualidade de vida destes indivíduos obesos. Esta condição reforça a necessidade de uma maior compreensão das interações dos genes, fatores dietéticos e estilo de vida (Qi & Cho, 2008).

Conforme os resultados obtidos na análise descritiva, observamos que não houve uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de colesterol entre eutróficos e obesos. Isso se deve ao fato que tais níveis não estão relacionados somente com a deposição de gordura corporal, e sim com uma combinação de fatores como uma dieta rica em gorduras saturadas, predisposição genética, idade, fumo, diabetes, entre outros. Os indivíduos que apresentam uma predisposição genética podem ser grandes produtores de colesterol ou estes não serem metabolizados favoravelmente devido a falhas em seus receptores, podendo se depositar na parede interna dos vasos sanguíneos, causando doenças cardiovasculares (Rodriguez & Trindade, 2006; Xavier *et al.*, 2013).

Comparando-se as variáveis entre os sexos, observamos diferenças em relação à CC, RCQ e ao DAS. As médias dessas variáveis foram maiores em homens, visto que a deposição de gordura varia de acordo com o sexo. Homens tendem a acumular mais gordura na região abdominal (gordura visceral); nas mulheres, o acúmulo é maior nas regiões quadriz, coxa e nádegas (Lee *et al.*, 2013) Para as concentrações séricas de leptina, verificamos um aumento dos níveis em mulheres. A concentração de leptina no sangue está altamente correlacionada com a massa total de gordura. Em mulheres pós-púberes, as concentrações são de duas

a três vezes mais elevadas do que em homens. Um aspecto interessante em relação à leptina é que sua produção difere entre os adipócitos, sendo maior no tecido adiposo subcutâneo do que no visceral (Leibel, 2002). As mulheres, por possuírem mais massa gorda, têm metabolismo basal mais lento, devido à ação de hormônios que precisam de gordura para atuar de forma correta. A regulação hormonal pode apresentar efeito estimulador nas concentrações de leptina circulantes. Dentre os hormônios podemos destacar o estrogênio, o qual se apresenta em altos níveis séricos no sexo feminino. No entanto, o efeito dos hormônios andrógenos influencia no metabolismo lipídico, diminuindo os níveis de algumas adipocinas, incluindo a leptina. Desse modo, pode-se inferir que, devido às altas concentrações de estrogênio comparadas às dos hormônios andrógenos, os níveis de leptina estejam mais elevados em mulheres do que em homens (Wajchenberg, 2000; Leibel, 2002; Kolovou *et al.*, 2014).

Devido à quantidade de genes e polimorfismos estudados, optamos por discutir sobre cada gene separadamente; as discussões específicas seguem abaixo.

### **VI.1. Gene *FTO***

O gene *FTO* vem sendo amplamente estudado, por ser um candidato à obesidade poligênica (Hess & Brunning 2014). Apesar de diversos estudos, a função do produto gênico e a via biológica envolvida no metabolismo ainda não foram completamente elucidadas (Terra *et al.*, 2010; Osborne *et al.*, 2014). Em um estudo de associação genômica ampla (GWAS) em voluntários europeus, Frayling e colaboradores (2007) observaram diferentes SNPs (polimorfismo de um único nucleotídeo) no primeiro íntron do gene, sendo o principal o rs9939609 (A>T). Eles buscavam uma possível associação entre o gene *FTO* e o diabetes *mellitus* tipo II, e verificaram que indivíduos com duas cópias do alelo selvagem (A), apresentavam maior chance de manifestar a doença, no entanto, após os ajustes estatísticos, a única variável que entrou no modelo de regressão foi o IMC, eliminando a associação do *DMT2* com o *FTO*, e sugerindo que esta relação ocorrera devido à presença de sobrepeso ou obesidade.

Após essa descoberta, muitos trabalhos foram realizados a fim de verificar a relação do gene *FTO* com o acúmulo de gordura corporal e fatores ambientais. Alguns autores sugerem que o genótipo homocigoto (AA) possa ser considerado o

genótipo de risco para obesidade (Frayling *et al.*, 2007; Dina *et al.*, 2007; Woehning *et al.*; 2013).

Diversos estudos têm demonstrado uma associação desse polimorfismo com a obesidade. Dina e colaboradores (2007) verificaram que adultos e crianças portadoras do alelo A apresentavam 22% de chance de desenvolver a obesidade. Além disso, diversos outros estudos associaram o alelo A ao aumento do IMC e da circunferência da cintura em americanos (Hunt *et al.*, 2008), em alemães (Woehning *et al.*; 2013), bem como uma associação do IMC e aumento do volume de gordura em crianças com idade superior a 4 (Da Silva *et al.*, 2013) e inferior a 10 anos (Lourenço *et al.*, 2014).

Em um estudo com ingleses, crianças portadoras do genótipo homocigoto AA apresentaram uma resposta reduzida à saciedade (Wardle *et al.*, 2008). Em contrapartida, Cecil e colaboradores (2008) não observaram esta relação, contudo, verificaram que os homocigotos AA tinham preferências por alimentos com alto teor de gordura, indicando que esses indivíduos apresentam uma ação hiperfágica.

Apesar dos inúmeros trabalhos realizados com o SNP rs9939609, alguns autores não observaram associações significativas (Ohashi *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008).

No presente trabalho, encontramos para o rs9939609 uma prevalência do alelo de risco (A) de 47%. Na população mundial, esta prevalência é de 36%, sendo a maior frequência encontrada em africanos (54%), seguida pela europeia (42%) e asiáticos (16%) (*Ensembl*). Em outros estudos com populações brasileiras, essa prevalência foi em torno de 40% (Da Silva *et al.*, 2013; Lourenço *et al.*, 2014), o que pode ser explicado pelas contribuições europeias e africanas em nossa população. Não foram encontrados efeitos significativos do polimorfismo sobre a obesidade, mas nota-se que os indivíduos obesos com o genótipo homocigoto (AA), possuem um IMC ligeiramente aumentado quando comparados com os genótipos heterocigoto (AT) e homocigoto (TT). No grupo de obesos, observamos um aumento dos níveis de triglicérides nos indivíduos homocigotos para o alelo T. Poucos trabalhos apontam uma avaliação dos níveis de triglicérides com esse polimorfismo, no entanto, durante nossa pesquisa encontramos um estudo realizado por de Luis e colaboradores (2013), que buscou analisar a relação entre esse SNP com a síndrome metabólica em mulheres obesas espanholas, porém, essa

associação não foi observada. No entanto, este gene foi associado a um aumento dos níveis de triglicerídeos, insulina e de resistência à insulina em mulheres obesas portadoras do genótipo TT, sem a presença de síndrome metabólica. Nossos resultados corroboram com os achados desses autores, o que é oposto aos observados por González-Sánchez e colaboradores (2009), que verificaram uma tendência de aumento dos triglicerídeos em indivíduos espanhóis que possuem o alelo de risco A. Os resultados encontrados atualmente na literatura não estão claros em relação à associação do alelo T do polimorfismo rs9939609 com os níveis de triglicerídeos. Essas diferenças encontradas para os resultados bioquímicos podem ser devido às diferenças de sexo, idade, IMC, composição étnica, fatores ambientais, estilo de vida, alimentação e número amostral (de Luis *et al.*, 2013). Além disso, o efeito de diferentes SNPs do gene *FTO* poderia modificar a relação de um único SNP com os parâmetros bioquímicos modulando essa interação (Peeters *et al.*, 2008). No entanto, sugere-se que para obtenção de melhores esclarecimentos sobre esse efeito, seria necessário um aumento significativo do número amostral e/ou realização de trabalhos semelhantes em outras amostras de populações brasileiras.

Outro polimorfismo do mesmo gene – rs1121980 (A>G) – apresentou uma prevalência de 48% para o alelo A (alelo de menor frequência) em nosso estudo; a prevalência mundial é de 37%. A população que apresenta a maior prevalência é a Africana (50%) e a menor frequência é observada em Asiáticos (19%). Enfim, o último polimorfismo analisado desse gene foi o rs17817449 (G>T), que apresenta uma prevalência mundial do alelo de risco G de 32%; em nossas amostras a prevalência foi de 43%, similar a dos europeus (42%) e africanos (41%). Para o polimorfismo rs1121980, a maior parte dos estudos mostra que essa variante está associada ao aumento do IMC, circunferência da cintura, obesidade extrema, quando apresentam o alelo de risco A (Dina *et al.*; 2007; Hinney *et al.*, 2007; Vimalaswaran *et al.*, 2009; Hotta *et al.*, 2008). No presente trabalho, apesar de não encontrarmos efeitos estatisticamente significativos em relação ao aumento do IMC e circunferência da cintura para este polimorfismo (rs1121980); o genótipo AA foi discretamente mais frequente em obesos, o que está de acordo com a maioria dos estudos publicados.

Estudos relacionados com o polimorfismo rs17817449, demonstraram que os indivíduos com o alelo de risco G, apresentavam uma associação com a obesidade, resistência à insulina, aumento da massa gorda (Dina *et al.*; 2007; Cha *et*

*al.*, 2008; Prakash *et al.*, 2011) e maior ingestão de alimentos ricos em gorduras e amidos refinados (Harbron *et al.*, 2014).

Tanto para o polimorfismo rs1121980 quanto para o rs17817449, observamos um aumento nos níveis de colesterol total e colesterol LDL em indivíduos obesos, o que sugere que estes indivíduos possuiriam um perfil lipídico de maior risco para doenças cardiovasculares.

Após os ajustes por idade das variáveis colesterol total e colesterol LDL, realizados através da análise de regressão, somente a presença do homozigoto TT para o SNP rs17817449, manteve-se associada a estas variáveis. Em nosso levantamento bibliográfico não foram encontrados trabalhos que mostram a relação desses polimorfismos com os níveis de colesterol, não sendo possível comparar os nossos resultados com dados de outras populações, sugerindo que com essa escassez de informações outros trabalhos devam ser realizados para um melhor esclarecimento.

## **VI.2. Gene *MC4R***

O principal componente do controle homeostático central dos sinais de fome e saciedade localiza-se na região hipotalâmica, sendo o gene que codifica o receptor de melanocortina tipo 4 (*MC4R*) de suma importância no controle do consumo alimentar. Polimorfismos de nucleotídeo único no *MC4R* podem causar um desequilíbrio na regulação homeostática, afetando sinalizadores periféricos e/ou centrais, induzindo o agravamento da obesidade e aumento do risco para o desenvolvimento de transtornos alimentares, como a compulsão alimentar.

O primeiro polimorfismo que estudamos no gene *MC4R* foi o rs2229616 (G>A) e segundo o banco de dados *Ensemble*, a prevalência do alelo A é de (2%) na população mundial, sendo sua maior frequência encontrada na África (4%). Em nosso estudo, a prevalência encontrada foi de 1%, a mesma encontrada em europeus.

No presente trabalho não foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre esse polimorfismo e a obesidade, no entanto outros trabalhos realizados em diferentes populações observaram resultados significativos. Young e colaboradores (2007) avaliaram uma população do Reino unido com 8304 indivíduos, e verificaram que indivíduos que carregavam o alelo A tinham um risco

reduzido de 18% de apresentar obesidade, conferindo a esses indivíduos um fator de proteção, bem como uma diminuição do IMC e triglicerídeos (Heid *et al.*, 2008).

Outro polimorfismo no mesmo gene que vem sendo amplamente estudado é o rs17782313 (T>C), por estar associado a uma predisposição à obesidade poligênica (Loos *et al.*, 2008) e aumento do risco de apresentar obesidade (Xi *et al.* 2012).

A prevalência mundial do alelo de risco (C) é de 22%. A maior frequência apresentada foi na África (28%), seguida pela Europa (23%) e a menor na América (15%) (*Ensembl*). A frequência observada no presente estudo foi de 24%, semelhante à encontrada em populações europeias (Loos *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2011).

Cauchi e colaboradores (2009), estudando 4762 adolescentes finlandeses e 3167 adultos franceses, observou que o alelo C foi associado com a obesidade e uma maior deposição de massa gorda em homens. O efeito desse mesmo alelo sobre o caráter obesidade e fenótipos associados também foi observado em outras populações (Loos *et al.*, 2008; Qi, *et al.*, 2008; Srivastava *et al.*, 2014). Em contrapartida, Tabara e colaboradores (2009) analisando 2.806 indivíduos adultos em uma população japonesa, não observaram diferenças significativas entre os genótipos com IMC e a obesidade. O mesmo resultado foi observado por Katsuura-Kamano (2014) também em japoneses, e por Yilmaz e colaboradores (2014) em uma população europeia.

Apesar de não observamos um resultado significativo para o polimorfismo rs17782313, nota-se em nosso estudo que em indivíduos obesos com o genótipo CC há um discreto aumento de IMC e de circunferência da cintura. Assim, para conclusões mais consistentes, sugere-se que sejam realizados trabalhos com um maior número amostral.

A maior parte dos estudos disponíveis na literatura tenta responder a relação desse polimorfismo com a obesidade, sendo exíguos dados que se referem ao aumento do colesterol total e LDL. Estudos recentes em camundongos tem demonstrado o papel da via melanocortina no metabolismo do colesterol. O estudo realizado por Perez-Dilve e colaboradores (2010), mostrou que quando a grelina inibe o MC4R ocorre um aumento da captação de colesterol no sangue. Em contrapartida, a ausência ou a diminuição da proteína MC4R resulta em uma maior

quantidade de tal lipídio no sangue. Nossos resultados mostraram que indivíduos portadores do genótipo CC para o polimorfismo rs17782313 apresentavam maiores níveis de colesterol total e LDL quando comparado aos outros genótipos. Com base nestes resultados, sugerimos que o polimorfismo rs17782313 possa, de uma forma ainda não compreendida, estar afetando os níveis de MC4R (Yilmaz *et al.*, 2014), o que poderia resultar no aumento dos níveis de colesterol em nossas amostras. Esses resultados estão de acordo com os observados por Tao e colaboradores (2012), que estudaram duas coortes em uma população chinesa e observaram associações significativas com o colesterol total e colesterol LDL.

### **V.3. Gene *PPARG***

O gene *PPARG* está envolvido na transcrição de genes relacionados à adipogênese do corpo, além de genes envolvidos no metabolismo de lipídios e glicose, carcinogênese e processos inflamatórios (Ben Ali *et al.*, 2009a; Bhatt *et al.*, 2012). O presente estudo analisou o polimorfismo rs1801282 (C>G – Pro12Ala) que está associado à diminuição da eficiência do receptor e também da habilidade de estimular a adipogênese (Mattevi *et al.*, 2007). Apesar de muitos estudos na literatura buscarem avaliar os efeitos deste polimorfismo sobre obesidade e DMT2, os resultados ainda são contraditórios.

Dentre os trabalhos podemos citar o de Ghousaini e colaboradores (2005), que estudaram crianças e adultos de uma população caucasiana e demonstraram que os indivíduos que possuíam o alelo C, tinham um risco aumentado para o desenvolvimento de diabetes tipo 2; o mesmo resultado foi encontrado por Hu e colaboradores (2009) em chineses. Da mesma forma, Moon e colaboradores (2005), estudando uma população Coreana, verificaram que quem possuía o alelo G, apresentava um risco reduzido de desenvolver DT2. Achados semelhantes foram encontrados por Jaziri e colaboradores (2006) e Gouda e colaboradores (2010).

Outros estudos encontraram associação entre o polimorfismo em questão (alelo G) e um aumento da gordura corporal em dinamarqueses (Tankó *et al.*, 2005), e um aumento do IMC em italianos (Morini *et al.*, 2006) e em indivíduos brasileiros do sexo masculino (Mattevi *et al.*, 2007). Além disso, associações significantes com a obesidade e resistência à insulina (Bhatt *et al.*, 2012) e com níveis elevados de glicose em jejum em crianças entre 3 e 4 anos (Zandoná *et al.*, 2013), também foram



observadas. Em contrapartida, dois estudos verificaram que portadores do alelo G possuíam um menor IMC, em escoceses (Cecil *et al.*, 2007) e tunisianos (Mohamed *et al.*, 2007).

Em grande parte das populações, o alelo de menor frequência é o G, variando de 1% (África) até 12% (Europa) (*Ensembl*). No presente trabalho, a prevalência do alelo G foi de 4%. Outro estudo, também realizado no Brasil, mostrou uma prevalência de 8%, mas a amostra constitui-se, em grande parte, por indivíduos euro-descendentes (Zandoná *et al.*, 2013), diferente da miscigenação encontrada para a nossa amostra, relativa à população do Rio de Janeiro.

Apesar de não encontrarmos diferenças significativas em relação à distribuição de frequências genóticas e alélicas entre eutróficos e obesos, verificamos a partir da análise de regressão múltipla que a variante rs1801282 (G) apresentou uma associação com aumento do IMC e níveis plasmáticos de leptina, que estão associados a fenótipos relacionados à obesidade. Nossos achados podem ser comparados com os estudos de Ben Ali e colaboradores (2009a), que também não encontraram diferenças significativas nas frequências genóticas desse polimorfismo, porém, na análise estratificada por sexo, observaram que homens portadores do alelo G apresentavam um maior IMC e maiores concentrações plasmáticas de leptina. No entanto, quando realizaram ajustes estatísticos por idade e IMC, esse efeito sobre os níveis de leptina desapareceu. Em nosso trabalho, esse resultado não se confirma, pois tendo realizado também os ajustes estatísticos, o efeito do polimorfismo sobre os níveis de leptina se manteve significativo. Um estudo realizado por Toruner e colaboradores (2004), observou que os níveis de leptina se encontraram reduzidos em camundongos quando induzidos a uma dieta hipercalórica. Com base na literatura, sugere-se que o alelo mutado (G) do polimorfismo rs1801282 poderia diminuir a ação do receptor PPAR $\gamma$  em nossa amostra, podendo ser associado a uma dieta hipercalórica, resultando no aumento dos níveis de leptina.

Diversos estudos têm associado o polimorfismo rs1801282 com o IMC, no entanto de forma controversa. Algumas vezes a variante Ala 12 (alelo G) está correlacionada com o aumento do IMC (Morini *et al.*, 2006; Mattevi *et al.*, 2007), enquanto que em outros estudos o Pro12 (alelo C) foi associado ao aumento deste índice (Cecil *et al.*, 2007; Mohamed *et al.*, 2007). Por outro lado, alguns estudos não

observaram uma relação desta mutação com o IMC (Swarbrick *et al.*, 2001). Nossos resultados mostraram uma associação da variante Ala 12 (alelo G) com o aumento do IMC em nossa amostra, no entanto ainda não é totalmente elucidado de que forma esta mutação pode estar interferindo neste aumento.

### **VI.3. Gene *ADRB3***

Grande parte das pesquisas vem demonstrando uma associação significativa entre a atividade deficiente dos receptores beta adrenérgicos ( $\beta$ -ARs) e a obesidade (Oguri *et al.*, 2013; Csernus *et al.*, 2014). Devido a isso, os estudos de genes que codificam tais receptores são de grande importância para entendimento dessa patologia. Entre tais genes, destacamos o *ADRB3*, expresso no tecido adiposo.

O polimorfismo mais estudado no gene *ADRB3* é o rs4994 (C>T), que leva a uma troca de triptofano por arginina no códon 64. Conforme visto no banco de dados *Ensembl*, o alelo C tem uma prevalência mundial de 10%; na Ásia foi encontrado com a maior prevalência (15%) e na Europa com a menor (8%). No presente estudo, a frequência para esse alelo foi de 9%, próxima à encontrada em outro estudo realizado também no Brasil (11%) (Mattevi *et al.*, 2006). A frequência do alelo C varia em diferentes populações: 13% em indivíduos finlandeses, alcançando 31% e 38% em Índios Pima e esquimós do Alasca, respectivamente (revisão em Corella *et al.*, 2001).

Csernus e colaboradores (2014), estudando crianças obesas da Hungria, verificaram que portadores do alelo C apresentavam maior IMC e peso corporal. Já Oguri e colaboradores (2013), em um estudo com crianças japonesas, observaram uma associação com síndrome metabólica, sugerindo que esse polimorfismo poderia afetar o acúmulo de gordura visceral. Em outro trabalho, realizado no Sul do Brasil por Brondani e colaboradores (2012), estudando 1015 pacientes com DMII e 561 indivíduos não diabéticos, verificaram que os portadores do alelo C apresentavam maior glicemia de jejum e colesterol HDL. Outros estudos apontam para uma ausência de associação do rs4994 com variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas (Mattevi *et al.*, 2006; Malik *et al.*, 2011).

No presente estudo observamos uma associação significativa do genótipo

TT com aumento dos níveis séricos de leptina somente em indivíduos eutróficos. Esse resultado pode ser explicado pelo número maior de mulheres genotipadas no grupo de eutróficos. Nesse grupo, dos 51 indivíduos, 39 são mulheres homozigotas TT e 12 homens, ou homozigotos CC ou heterozigotos. Sabe-se que as mulheres apresentam níveis de leptina muito superior aos dos homens (Wajchenberg, 2000; Leibel, 2002; Kolovou *et al.*, 2014). Isso pode ser observado na tabela 9: nossos resultados mostram que os níveis de leptina nas mulheres se apresentam aproximadamente cinco vezes maior quando comparados com o dos homens. Portanto, o resultado observado do efeito do polimorfismo em relação aos níveis de leptina deve ser produto da distribuição enviesada da amostra; isto é, o efeito pode ser devido ao sexo e não ao polimorfismo. Sugerindo que estes estudos devam ser ampliados, para melhores esclarecimentos torna-se necessário um aumento do número de homens no grupo dos indivíduos eutróficos.

## **VI.5. Gene *UCP1***

Um dos polimorfismos analisados no gene *UCP1* foi o rs12502572 (A>G), e de acordo com o banco de dados *Ensembl*, a prevalência do alelo A é de 47% na população mundial, apresentando uma maior frequência na África (71%) e a menor na Europa (38%). Em nosso estudo a prevalência encontrada foi de 49%.

Outro polimorfismo estudado no mesmo gene foi o rs6536991 (C>T), em que o alelo C apresenta uma prevalência no mundo de 32%, sendo de 23% em europeus, 58% em africanos e 20% em asiáticos. No presente trabalho, a frequência observada foi de 41%, refletindo a mistura étnica de nossa população.

No Brasil, Ramos e colaboradores (2012) em um estudo com 126 indivíduos obesos mórbidos e 113 eutróficos, verificaram que o polimorfismo rs6536991 foi associado significativamente com IMC, porém, em relação ao polimorfismo rs12502572, esses autores não encontraram nenhuma associação com a obesidade, resultado similar ao encontrado em nosso estudo.

No presente estudo, em relação ao polimorfismo rs6536991, encontramos um maior número de indivíduos heterozigotos CT nos dois grupos (obesos e eutróficos), sem diferenças significativas. Entretanto existe uma marcada diferença nas distribuições genóticas dentre os dois estudos, e reanalisando os dados de

Ramos e colaboradores (2012), observamos que o grupo de obesos encontra-se em total desequilíbrio de Hardy e Weinberg, fato diferente ao encontrado nos nossos resultados. Portanto não foi possível fazer comparações consistentes. Assim, Ramos encontra uma tendência (dose-dependente do alelo T) do aumento no IMC entre os controles, resultado não verificado em nosso estudo.

Observamos que o polimorfismo rs6536991 apresenta uma associação significativa com a circunferência de cintura em ambos os grupos, porém essa associação tem sentidos contrários; em eutróficos a circunferência da cintura está aumentada nos indivíduos de genótipo CC enquanto que no grupo de obesos esse incremento é visto nos indivíduos de genótipo TT; este resultado é corroborado pelos mostrados na tabela 22, onde notamos uma interação significativa entre os efeitos do grupo e do polimorfismo.

Entre os eutróficos, além da circunferência da cintura, encontramos também aumentos significativos no diâmetro abdominal sagital, colesterol total e colesterol LDL entre os indivíduos com o genótipo CC.

Embora algumas variantes genéticas sejam relatadas em associação com a obesidade ou fenótipos relacionados à obesidade, outros estudos são necessários, em função do número reduzido de trabalhos publicados na literatura, para tentar elucidar esse grande desafio, sobretudo no que diz respeito a esses polimorfismos (rs1121980 e rs6536991). Deve-se destacar que o único trabalho que encontramos foi realizado numa população brasileira (Minas Gerais) (Ramos *et al.*, 2012). Além disso, o número amostral é uma limitação para o estudo de uma condição poligênica. Consideramos que devido ao efeito, em geral, pequeno de cada polimorfismo genético individual, sugere-se o aumento de estudos aplicando técnicas de meta-análise.

## **VI.6. Gene *LEPR***

O receptor da leptina, por apresentar um papel crucial na regulação do peso corporal, vem sendo cada dia mais estudado, em busca de variantes que possam contribuir para a fisiopatologia da obesidade. Já foram relatadas mais de 10 regiões polimórficas no gene *LEPR* (Heo *et al.*, 2001), no entanto, a associação dessas variantes com a obesidade tem sido contraditória.

O primeiro polimorfismo no gene *LEPR* analisado em nosso trabalho foi o rs1805094(G>C). Baseada no banco de dados *Ensembl*, a prevalência do alelo C observada na população mundial é de 15%, sendo a maior frequência encontrada na população americana (19%), seguida pela africana (18%) e a menor em asiáticos (7%). Em nossa população encontramos uma prevalência de 28%; em outro estudo também na população brasileira essa prevalência é semelhante (Oliveira *et al.*, 2013). A maioria dos estudos mostra que este polimorfismo não estaria associado com IMC e obesidade em diferentes populações: suecos (Rosmond *et al.*, 2000), europeus (Yiannakouris *et al.*, 2001) e brasileiros (Oliveira *et al.*, 2013), entre outros.

O polimorfismo rs1137100 (A>G) que está presente no mesmo gene, também foi objeto de nosso estudo. A prevalência mundial do alelo G, segundo o banco de dados *Ensembl*, é de 39%. A maior frequência é encontrada na Ásia (81%), seguida pela Europa (29%), América (27%) e África, com 13%. A prevalência encontrada em nossa amostra foi de 18%.

A partir de um estudo em uma população constituída por homens suecos, Rosmond e colaboradores (2000), verificaram que portadores do genótipo GG do polimorfismo rs1137100, apresentavam menor IMC, DAS, menores níveis de PAS, PAD, colesterol HDL e triglicerídeos. Oliveira e colaboradores (2013) observaram que portadores do genótipo GG apresentavam menor risco de desenvolver obesidade, entretanto, quando realizaram uma análise de regressão, verificaram que quem possuía o alelo G apresentava níveis elevados de colesterol total e triglicerídeos. Em um estudo com adolescentes europeus, Labayen e colaboradores (2011), observaram que este polimorfismo foi associado significativamente com a adiposidade, e indivíduos portadores do alelo A tinham uma maior porcentagem de gordura e IMC. No entanto, Furusawa e colaboradores (2010) não encontraram associação significativa deste polimorfismo com obesidade, aumento do peso corporal e IMC.

Os resultados encontrados em nosso estudo podem ser comparados (e corroborados) com os de Yiannakouris e colaboradores (2001), onde analisaram uma amostra de 120 jovens, para os polimorfismos rs1805094 e rs1137100 do gene *LEPR*, e não observaram uma associação significativa entre as frequências genotípicas e alélicas e as variáveis de composição corporal.

Finalmente o último polimorfismo analisado no gene *LEPR*, foi o rs1137101

(A>G), cuja prevalência mundial é de 59%. A maior prevalência encontrada foi na Ásia (78%) seguida pela África (54%) e Europa (49%) (*Ensembl*). A prevalência do alelo G, no presente estudo, foi de 47%, semelhante à de outro estudo realizado no sul do Brasil (43%) (Zandoná *et al.*, 2013). Existe uma grande diversidade em relação aos achados bibliográficos, e ainda não há um consenso em relação ao alelo de risco desse polimorfismo, visto que ambos os alelos, A e G, são mencionados como associados à obesidade e/ou a fenótipos relacionados.

No Brasil, Mattevi e colaboradores (2002), verificaram que a variante rs1137101 foi associada com IMC, principalmente em não fumantes, em uma amostra de eurodescendentes no Sul do país. Além disso, Duarte e colaboradores (2007) encontraram um resultado similar, porém, em uma amostra de diferentes origens étnicas, no Rio de Janeiro e Murugesan e colaboradores (2010) em uma amostra de diabéticos na Índia.

Alguns trabalhos demonstraram que alelo A estava associado a menores níveis de colesterol HDL, aumento de triglicérides e pressão arterial sistólica e diastólica (Rosmond, 2000), maior percentual de gordura e valores elevados de leptina (Guízar-Mendoza *et al.*, 2005), esse alelo estava também relacionado a um maior peso corporal e IMC (Furusawa *et al.*, 2010).

Seguindo uma direção oposta outros trabalhos associaram o alelo G com maior risco para adiposidade (Fairbrother *et al.*, 2007), aumento da ingestão de energia diária total em crianças e aumento da glicemia de jejum (Zandoná *et al.*, 2013).

Yiannakouris e colaboradores (2001) em uma população grega, não observou uma associação significativa entre as frequências genotípicas e alélicas para este polimorfismo, no entanto, após uma análise de regressão, observou que quem possuía o alelo G apresentava valores aumentados de IMC. Da mesma forma, Oliveira e colaboradores (2013), visualizaram o mesmo resultado, porém na análise de regressão verificaram uma associação com um aumento da circunferência da cintura e leptinemia, para este mesmo alelo. Ademais, Constantin e colaboradores (2010), verificou que indivíduos portadores do alelo G, tinham maiores níveis plasmáticos de glicose e triglicérides, níveis diminuídos de colesterol HDL, e níveis elevados de pressão arterial sistólica e diastólica.

Saukko e colaboradores (2010) examinaram 526 indivíduos em uma

população finlandesa, a fim de verificar a associação dos polimorfismos rs1137100 e rs1137101 com risco de apresentar aterosclerose. Foi observada uma associação significativa com IMC, e que os portadores do alelo G apresentavam maiores níveis de colesterol. Para a variante (rs1137101), relataram um aumento nos níveis de pressão arterial sistólica em indivíduos heterozigotos (AG). Nossos resultados foram semelhantes em relação à pressão arterial sistólica, porém, encontramos também um aumento da pressão arterial diastólica e média para os indivíduos heterozigotos.

Quando realizamos uma análise de regressão múltipla, verificamos uma associação significativa do alelo G (rs1137101) com o aumento das variáveis IMC, RCQ, DAS, PAS e PAM, estas associadas a fenótipos relacionados com a obesidade, corroborando resultados de outros estudos (Yiannakouris *et al.*, 2001; Constantin *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2013). Sabe-se que o polimorfismo rs1137101 resulta em uma troca de aminoácidos de diferentes propriedades, uma vez que um é polar (glutamina) e o outro é básico (arginina). Dessa forma, esta troca poderia ocasionar uma mudança funcional da proteína (Yiannakouris *et al.*, 2001). Sabe-se que o LEPR atua na via da homeostase energética e que modificações na sua proteína podem resultar em uma desregulação dessa via, por aumentar a ingestão de alimentos, o que resulta em um desequilíbrio energético, aumentando a adiposidade corporal (Bell *et al.*, 2005; Lee & Mattson, 2014). Com base nestes trabalhos, sugerimos que este polimorfismo poderia estar afetando a ação do LEPR na nossa amostra, causando uma ruptura no balanço energético ocasionando o aumento do IMC, RCQ e DAS. Já com relação à pressão arterial, ainda não há uma explicação clara do papel do LEPR em relação ao controle dessa via. No entanto, sabemos que o excesso de peso está associado a um aumento da pressão sanguínea, permitindo-nos sugerir que este polimorfismo (rs1137101) possa estar aumentando a adiposidade corporal e, de uma forma indireta, elevando os níveis pressóricos.

## **VI. 7. Análise Multivariada**

A partir das análises de regressão multivariada observamos a formação de grupos que de alguma forma estão relacionados aos fenótipos da obesidade. No primeiro agrupamento, visualizamos características antropométricas utilizadas para definição do fenótipo da obesidade. O segundo grupo está constituído pelos níveis pressóricos, sabidamente relacionados entre si. No terceiro grupo, observa-se o

perfil lipídico, sendo estas variáveis também, em geral, correlacionadas à obesidade. Devemos enfatizar que os níveis pressóricos e lipídicos não necessariamente são exclusivos do fenótipo da obesidade.

Os níveis de leptina claramente estão relacionados ao fenótipo da obesidade, mensuradas pelo IMC, RCQ e colesterol HDL, portanto, podem ser considerados marcadores bioquímicos de risco para o desenvolvimento da obesidade (Lehninger, 2002).

Os resultados apresentados em relação ao efeito dos polimorfismos estudados com a obesidade nos mostram que quando tratamos de características multifatoriais, onde os fatores genéticos dependem das frequências, tanto alélicas como genotípicas, é necessário que estas sejam suficientemente altas, pois fica extremamente difícil fazer inferências consistentes quando tais frequências são pequenas, e com efeitos também são pequenos. Sendo preciso nestes casos um número amostral muito grande.

Por outro lado, o problema torna-se maior ainda, se considerarmos a complexidade da mistura e diversidade étnica nas diversas regiões brasileiras. Particularmente em relação ao Rio de Janeiro, onde diferentes grupos ancestrais contribuíram para a formação de sua população: Europeus (52%), Africanos (41%) e Ameríndios (7%) (Pena *et al.*, 2011).



## VII. CONCLUSÕES

- Como era de se esperar, todas as variáveis normalmente utilizadas como indicadores do fenótipo da obesidade foram estatisticamente diferentes entre os grupos de eutróficos e os obesos. A circunferência da cintura, razão cintura/quadril, diâmetro abdominal sagital, pressão arterial, triglicerídeos, colesterol LDL e leptina estão aumentados em obesos, enquanto que o colesterol HDL foi significativamente maior em eutróficos.
- Na comparação entre os sexos, a circunferência da cintura, razão cintura/quadril, diâmetro abdominal sagital, pressão arterial sistólica e triglicerídeos foram significativamente maiores entre os homens; nas mulheres, somente o colesterol HDL e a leptina apresentaram diferenças significantes.
- Entre os graus de adiposidade, observamos um aumento progressivo significativo da circunferência da cintura, diâmetro abdominal sagital e leptina para os diferentes graus.
- Na avaliação dos efeitos do polimorfismo rs9939609, do gene *FTO*, observamos que os níveis de triglicerídeos apresentaram valores maiores entre os homozigotos TT do grupo de obesos.
- No grupo dos obesos, os níveis de colesterol total e LDL apresentaram um aumento entre os indivíduos de genótipo GG no polimorfismo rs1121980 do gene *FTO*; resultados similares foram observados em relação ao genótipo TT do polimorfismo rs17817449 do mesmo gene e do genótipo CC do polimorfismo rs17782313 do gene *MC4R*.
- Analisando o polimorfismo rs1801282 do gene *PPARG*, não encontramos nenhuma associação nas comparações entre eutróficos e obesos, porém, na análise de regressão múltipla, observamos um efeito significativo do alelo G sobre as variáveis IMC e os níveis plasmáticos de leptina.

- Em relação ao polimorfismo rs6536991 do gene *UCP1*, a circunferência da cintura sofre um efeito significativo em ambos os grupos (eutróficos e obesos), porém em sentido inverso; nos eutróficos esse caráter é aumentado entre os indivíduos do genótipo CC, enquanto que nos obesos esse aumento é verificado entre os indivíduos de genótipo TT, mostrando um efeito de interação estatisticamente significativo. Além disso, entre os eutróficos os indivíduos de genótipo CC apresentaram maiores valores do diâmetro abdominal sagital, colesterol total e LDL.
- No polimorfismo rs1137101 do gene *LEPR*, os indivíduos portadores do alelo G apresentaram maiores valores de IMC, Circunferência da cintura, Diâmetro Abdominal Sagital, Razão cintura/quadril, Pressão Arterial Sistólica e Pressão Arterial Média.
- Nenhum resultado estatisticamente significativo foi encontrado nas análises dos polimorfismos rs2229616 do gene *MC4R*, rs12502572 do gene *UCP1*, rs1805094 e rs1137100 do gene *LEPR* em relação ao conjunto de variáveis indicadoras da obesidade.

## VIII. REFERÊNCIAS

Adamczak, M. & Wiecek, A. (2013). The Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Seminars in Nephrolog.* 33 (1): 2-13.

Ahima, R.; Osei, S.Y. (2004). Leptin and appetite control in lipodystrophy. *J.Clin Endocrinol Metab.*, 89(9):4254-7.

Alberti, K.G.; Eckel, R.H.; Grundy, S.M.; Zimmet, P. Z.; Cleeman, J. I.; Donato K. A.; Fruchart, J. C.; James, W. P.; Loria, C. M.; Smith, S. C.; Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention.; National Heart, Lung, and Blood Institute.; American Heart Association.; World Heart Federation.; International Atherosclerosis Society.; International Association for the Study of Obesity. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.*, 120:1640-5.

Angeli, C. B.; Kimura, L.; Auricchio, M. T.; Vicente, J. P.; Mattevi, V. S.; Zembruski, V. M.; Hutz, M. H.; Pereira, A. C.; Pereira, T. V.; Mingroni-Netto, R. C. (2011). Multilocus analyses of seven candidate genes suggest interacting pathways for obesity-related traits in Brazilian populations. *Obesity (Silver Spring).*, 19(6):1244-51.

Aprile, M.; Ambrosio, M. R.; D'Esposito, V.; Beguinot, F.; Formisano, P.; Costa, V.; Ciccodicola, A. (2014). PPARG in Human Adipogenesis: Differential Contribution of Canonical Transcripts and Dominant Negative Isoforms. *PPAR Res.*, 2014:537865.

Arch, J. R.; Kaumann, A. J. (1993). Beta 3 and atypical beta adrenoreceptors. *Med Res Rev.*, 13(6):663-729.

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica – ABESO. (2009). Diretrizes Brasileira de Obesidade - Sobrepeso e Obesidade: Diagnóstico.,11-15.

Azzu, V.; Jastroch, M.; Divakaruni, A. S.; Brand, M. D. (2010). The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins. *Biochim Biophys Acta.*, 1797(6-7):785-91.

Baturin, A. K.; Sorokina, E. I. U.; Pogožheva, A. V.; Peskova, E. V.; Makurina, O. N.; Tutel'ian, V. A. (2014). [Regional features of obesity-associated gene polymorphism (rs9939609 FTO gene and gene Trp64Arg ADRB3) in Russian population]. *Vopr Pitan.*, 83 (2): 35-41.

Bell, C. G.; Walley, A. J.; Froguel, P. (2005). The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet.*, 6(3):221-34.

Ben Ali, S.; Ben Yahia, F.; Sediri, Y.; Kallel, A.; Ftouhi, B.; Feki, M.; Elasmı M, Haj-Taieb S.; Souheil, O.; Sanhagi, H.; Slimane, H.; Jemaa, R.; Kaabachi, N. (2009a).

Ben Ali, S.; Kallel, A.; Sediri, Y.; Ftouhi, B.; Feki, M.; Slimene, H.; Jemaa, R.; Kaabachi, N. (2009 b). LEPR p.Q223R Polymorphism influences plasma leptin levels and body mass index in Tunisian obese patients. *Arch Med Res.*, 40(3):186-90.

Bener, A.; Darwish, S.; Al-Hamaq, A. O.; Mohammad, R. M.; Yousafzai, M. T. (2013). Association of PPAR $\gamma$ 2 gene variant Pro12Ala polymorphism with hypertension and obesity in the aboriginal Qatari population known for being consanguineous. *Appl Clin Genet.*, 24:6:103-11.

Bhatt, S. P.; Misra, A.; Sharma, M.; Luthra, K.; Guleria, R.; Pandey, R. M.; Vikram, N. K. (2012). Ala/Ala genotype of Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 gene is associated with obesity and insulin resistance in Asian Indians. *Diabetes Technol Ther.*, 14(9):828-34.

Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature.*, (7143):396-8.

Blouin, K.; Boivin, A.; Tchernov , A. (2008). Androgens and body fat distribution. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 108 (3-5): 272-80.

Boutin, P.; Froguel, P. (2001). Genetics of human obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, 15(3):391-404. Review.

Braissant, O.; Fougelle, F.; Scotto, C.; Dau a, M.; Wahli, W. (1996). Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology.*, 137(1):354-66.

Brondani, L. A.; Assmann, T. S.; Duarte, G. C.; Gross, J. L.; Canani, L.H.; Crispim, D. (2012). The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*, 56(4):215-25.

Burdge, G. C.; Lillycrop, K. A. (2014). Environment-physiology, diet quality and energy balance: the influence of early life nutrition on future energy balance. *Physiol Behav.*, 134:119-22.

Cagliani, R.; Fumagalli, M.; Pozzoli, U.; Riva, S.; Comi, G. P.; Torri, F.; Macciardi, F.; Bresolin, N.; Sironi, M. (2009). Diverse evolutionary histories for beta-adrenoreceptor genes in humans. *Am J Hum Genet.*, 85(1):64-75.

Cannon, B.; Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.*, 84: 277-359.

Cauchi, S.; Stutzmann, F.; Cavalcanti-Proença, C.; Durand, E.; Pouta, A.; Hartikainen, A. L.; Marre, M.; Vol, S.; Tammelin, T.; Laitinen, J.; Gonzalez-Izquierdo, A.; Blakemore, A. I.; Elliott, P.; Meyre, D.; Balkau, B.; Järvelin, M. R.; Froguel, P. (2009). Combined effects of MC4R and FTO common genetic variants on obesity in European general populations. *J Mol Med (Berl)*., 87:537-46.

Cecil, J. E.; Tavendale, R.; Watt, P.; Hetherington, M. M.; Palmer, C. N. A. (2008). Obesity-Associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *N England J Med*;359:2558-66.

Cecil, J. E.; Palmer, C. N.; Fischer, B.; Watt, P.; Wallis, D. J.; Murrie, I.; Hetherington, M. M. (2007). Variants of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma- and beta-adrenergic receptor genes are associated with measures of compensatory eating behaviors in young children. *Am J Clin Nutr.*, (1):167-73.

Cha, S. W.; Choi, S.M.; Kim, K. S.; Parque, B. L.; Kim, J. R.; Kim J. Y.; Shin, H. D. (2008). Replication of genetic effects of FTO polymorphisms on BMI in a Korean population. *Obesidade (Silver Spring)*., (9):2187-9.

Chambers, J.C., Elliott, P., Zabaneh, D., Zhang, W., Li, Y., Froguel, P., Balding, D., Scott, J. and Kooner, J.S. (2008) Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat. Genet.*, 40, 716–718.

Chan, R. S.; Woo, J. (2011). Prevention of overweight and obesity: how effective is the current public health approach. *Int J Environ Res Public Health.*, (3):765-83.

Chechi, K. A.; Carpentier, A. C.; Richard D. (2013). Understanding the brown adipocyte as a contributor to energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.*, 24(8):408-20.

Choquet. H.; Meyre, D. (2010). Genomic insights into early-onset obesity. *Genome Med.*, 23; 2(6):36.

Church, C.; Moir, L.; McMurray, F.; Girard, C.; Banks, G. T.; Teboul, L.; Wells, S.; Brüning, J. C.; Nolan, P. M.; Ashcroft, F. M.; Cox, R. D. (2010). Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet.*, 42(12):1086-92.

Constantin, A.; Costache, G.; Sima, A. V.; Glavce, C. S.; Vladica, M.; Popov, D. L. (2010). Leptin G-2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian subjects. *Biochem Biophys Res Commun.*, 391(1): 282-286.

Corella, D.; Guillén, M.; Portolés, O.; Sorlí, J. V.; Alonso, V.; Folch, J.; Sáiz, C. (2001). Gender specific associations of the Trp64Arg mutation in the beta3-adrenergic receptor gene with obesity-related phenotypes in a Mediterranean population: interaction with a common lipoprotein lipase gene variation. *J Intern Med.*, 250(4):348-60.

Csernus, K.; Pauler, G.; Erhardt, E.; Lányi, E.; Molnár, D. (2014). Effects of energy expenditure gene polymorphisms on obesity-related traits in obese children. *Obes Res Clin Pract.*, pii: S1871-403X(14)00499-2.

Cusi, K. (2012). Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology.*, 142 (4):711-725.

Da Silva, C. F.; Zandoná, M. R.; Vitolo, M. R.; Campagnolo, P. D.; Rotta, L. N.; Almeida, S.; Mattevi, V.S. (2013). Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. *BMC Med Genet.*,(14):34.

Dalgaard, L. T.; Pedersen, O. (2001) Uncoupling proteins: functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and Type II diabetes. *Diabetologia.*, 44(8):946-65.

de Luis, D. A; Aller, R; Conde, R. Izaola O, de la Fuente B, Sagrado MG (2013). Relation of the rs9939609 gene variant in FTO with metabolic syndrome in obese female patients., *J Diabetes Complications.*, 27(4):346-50.

de Souza, B. M.; Brondani, L. A.; Bouças, A. P.; Sortica, D. A.; Kramer, C. K.; Canani, L. H.; Leitão, C. B.; Crispim, D. (2013). Associations between UCP1 3826A/G, UCP2 866G/A, Ala55val and Ins/Del, and UCP3- 55 C/T polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: case-control study and meta-analysis. *PLoS One.*, 8(1):54259.

Dina, C.; Meyre, D, Gallina, S.; Durand, E.; Körner, A.; Jacobson, P.; Carlsson LM, Kiess W, Vatin V, Lecoœur C, Delplanque J.; Vaillant, E.; Pattou, F.; Ruiz, J.; Weill, J.; Levy-Marchal, C.; Horber, F.; Potoczna, N.; Hercberg, S.; Le Stunff, C.; Bougnères, P.; Kovacs, P.; Marre, M.; Balkau, B.; Cauchi, S.; Chèvre, J.C.; Froguel, P. (2007). Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet.*, (6):724-6.

Dongxia, L.; Qi, H.; Lisong, L.; Jincheng, G. (2008). Association of peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene Pro12Ala and C161T polymorphisms with metabolic syndrome. *Circ J.*, 72(4):551-7.

Duarte, S. F.; Francischetti, E. A.; Genelhu, V. A.; Cabello, P. H.; Pimentel, M. M. (2007). LEPR p.Q223R, beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. *Genet Mol Res.*, 5;6(4):1035-43.

*ENSEMBL* - Base de dados. Disponível em: < [http://: ensembl.org/](http://ensembl.org/) >. Acesso em: 10 set. 2014.

Esteve Rafóls M. (2014). Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity. *Endocrinol. Nutr.*, 61(2): 100-12.

Evans, R. M.; Barish, G. D.; Wang, Y. X. (2004). PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med.*, 10(4):355-61.

Fairbrother, U. L.; Tankó, L. B.; Walley, A. J.; Christiansen, C.; Froguel, P.; Blakemore, A. I. (2007). Leptin receptor genotype at Gln223Arg is associated with body composition, BMD, and vertebral fracture in postmenopausal Danish women. *J Bone Miner Res.*, 22(4):544-50.

Farooqi, I.S.; O'Rahilly, S.(2005). Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med.*, 56:443-58.

Fischer, J.; Koch, L.; Emmerling, C.; Vierkotten, J., Peters, T.; Brüning, J. C.; Rüdter, U. (2009). Inactivation of the Fto gene protects from obesity. *Nature.* 458 (7240):894-8.

Flegal, K. M; Carrol, M. D; Ogden, C. L; Johnson, C. L. (2002). Prevalence and trends in obesity among U.S. adults, 1999-2000. *J. Am. Med. Assoc.*, 288: 1723-1727.

Frayling, T. M.; Timpson, N. J.; Weedon, M. N.; Zeggini, E.; Freathy, R. M.; Lindgren, C. M.; Perry, J.R.; Elliott, K. S.; Lango, H.; Rayner, N. W.; Shields, B.; Harries, L. W.; Barrett, J. C.; Ellard, S.; Groves, C. J.; Knight, B.; Patch, A. M.; Ness, A. R.; Ebrahim, S.; Lawlor, D. A.; Ring, S. M.; Ben-Shlomo, Y.; Jarvelin, M. R.; Sovio, U.; Bennett, A. J.; Melzer, D.; Ferrucci, L.; Loos, R. J.; Barroso, I.; Wareham, N. J.; Karpe, F.; Owen, K. R.; Cardon, L. R.; Walker, M.; Hitman, G. A.; Palmer, C. N.; Doney, A. S.; Morris, A. D.; Smith, G. D.; Hattersley, A. T.; McCarthy, M. I. (2007). A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.*, 316: 889- 894.

Fredriksson, R.; Hägglund, M.; Olszewski, P. K.; Stephansson, O.; Jacobsson J. A.; Olszewska, A. M.; Levine, A. S.; Lindblom, J.; Schiöth, H. B. (2008). The obesity gene, FTO, is of ancient origin, up-regulated during food deprivation and expressed in neurons of feeding-related nuclei of the brain. *Endocrinology.* 149(5):2062-71.

Friedman, J. M. (2003). A war on obesity, not the obese. *Science.*, (5608):856-8.

Furusawa, T.; Naka, I.; Yamauchi, T.; Natsuhara, K.; Kimura, R.; Nakazawa, M.; Ishida, T.; Inaoka, T.; Matsumura, Y.; Ataka, Y.; Nishida, N.; Tsuchiya, T.; Ohtsuka, R.; Ohashi, J. (2010). The Q223R polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders. *Hum Genet.*, (3):287-94.



Garg, G.; Kumar, J.; McGuigan, F. E.; Ridderstråle, M.; Gerdhem, P.; Luthman, H.; Åkesson, K. (2014). Variation in the MC4R gene is associated with bone phenotypes in elderly Swedish women. (2014). PLoS One. 6; 9 (2):88565.

Ghoorah, K.; Campbell, P.; Kent, A.; Maznyczka, A.; Kunadian, V. (2014). Obesity and cardiovascular outcomes: a review. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care., [Epub ahead of print].

Ghossaini, M.; Meyre, D.; Lobbens, S.; Charpentier, G.; Clément, K.; Charles M. A.; Tauber, M.; Weill, J.; Froguel, P. (2005). Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population. BMC Med Genet., 22;6:11.

González-Sánchez, J. L.; Zabena, C.; Martínez-Larrad, M. T.; Martínez-Calatrava, M. J.; Pérez-Barba, M.; Serrano-Ríos, M. (2009). Variant rs9939609 in the FTO gene is associated with obesity in an adult population from Spain. Clin Endocrinol., 70(3):390-3.

Gotoda, T.; Scott, J.; Aitman, T. J. (1997). Molecular screening of the human melanocortin-4 receptor gene: identification of a missense variant showing no association with obesity, plasma glucose, or insulin. Diabetologia., (8): 976-9.

Gouda, H. N.; Sagoo, G. S.; Harding, A. H.; Yates, J.; Sandhu, M.; S.; Higgins, J. P. (2010) The association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis. Am J Epidemiol., 171(6):645-55.

Guízar-Mendoza, J. M.; Amador-Licona, N.; Flores-Martínez, S. E.; López-Cardona, M. G.; Ahuatzin-Trémery, R.; Sánchez-Corona J. (2005). Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. J Hum Hypertents., 19(5):341-6.

Harbron, J.; Van der Merwe, L.; Zaahl, M. G.; Kotze, M. J.; Senekal, M.; (2014). Fat mass and obesity-associated (FTO) gene polymorphisms are associated with physical activity, food intake, eating behaviors, psychological health, and modeled change in body mass index in overweight/obese Caucasian adults. Nutrients., (8):3130-52.

Hassan, M.; Latif.; N.; Yacoub, M. (2012). Adipose tissue: friend or foe? *Nat Rev Cardiol.*, 9(12):689-702.

Hebebrand, J; Hinney ,A; Knoll, N; Volckmar, A. L; Scherag, A. (2013) Molecular genetics aspects of weight regulation. *Dtsch Arztebl Int.*, 110(19): 338–44.

Heid, I. M.; Vollmert, C.; Kronenberg, F.; Huth, C.; Ankerst, D. P.; Luchner, A.; Hinney, A.; Brönnner, G.; Wichmann, H. E.; Illig, T.; Döring, A.; Hebebrand, J. (2008). Association of the MC4R V103I polymorphism with the metabolic syndrome. The KORA Study. *Obesity (Silver Spring)*., (2):369-76.

Heo, M.; Leibel, R.L.; Boyer, B. B.; Chung, W. K.; Koulu, M.; Karvonen, M. K.; Pesonen, U.; Rissanen, A.; Laakso, M.; Uusitupa, M. I.; Chagnon, Y.; Bouchard, C.; Donohoue, P. A.; Burns, T. L.; Shuldiner, A. R.; Silver, K.; Andersen, R. E.; Pedersen, O.; Echwald, S.; Sørensen, T. I.; Behn, P.; Permutt, M. A.; Jacobs, K. B.; Elston, R. C.; Hoffman, D. J.; Allison, D. B. (2001). Pooling analysis of genetic data: the association of leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics.*, 159(3):1163-78.

Herrera ,B .M.; Keildson, S.; Lindgren C. M. (2011). Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas.*, 69:41-9.

Herrera, B. M.; Lindgren, C.M. (2010). The Genetics of Obesity. *Curr. Diab. Rep.*, 10: 498-505.

Hertel, J. K.; Johansson, S.; Sonestedt, E.; Jonsson, A.; Lie, R. T.; Platou, C.G.; Nilsson, P.M.; Rukh, G.; Midthjell, K.; Hveem, K.; Melander, O.; Groop, L.; Lyssenko, V.; Molven, A.; Orho-Melander, M.; Njølstad, P.R. (2011). FTO, type 2 diabetes, and weight gain throughout adult life: a meta-analysis of 41, 504 subjects from the Scandinavian Hunt, MDC and MPP studies. *Diabetes.*, (5): 1637-44.

Hess, M. E.; Brüning, J. C. (2014). The fat mass and obesity-associated (FTO) gene: Obesity and beyond? *Biochim Biophys Acta.*, 1842(10):2039-47.

Hinney, A.; Volckmar, A. L.; Knoll, N. (2013). Melanocortin-4 receptor in energy homeostasis and obesity pathogenesis. *Mol Biol Prog Transl Sci.*, (114): 147-91.

Hinney, A.; Nguyen, T. T.; Scherag, A.; Friedel, S.; Brönnner, G.; Müller, T.

D., Grallert, H.; Illig, T.; Wichmann, H. E.; Rief, W., Schäfer, H.; Hebebrand, J. (2007). Genome wide association (GWA) study for early onset extreme obesity supports the role of fat mass and obesity associated gene (FTO) variants. *PLoS One.*, 2(12):1361.

Horstmann, A.; Kovacs, P.; Kabisch, S.; Boettcher, Y.; Schloegl, H.; Tönjes, A.; Stumvoll, M.; Pleger, B.; Villringer, A. (2013). Common genetic variation near MC4R has a sex-specific impact on human brain structure and eating behavior. *PLoS One.*, 16;8(9):e74362.

Hossain P, Kwar B, El Nahas M (2007). Obesity and diabetes in the developing world a growing challenge. 356 (9): 973.

Hotta, K.; Nakata, Y.; Matsuo, T.; Kamohara, S.; Kotani, K.; Komatsu, R.; Itoh, N.; Mineo, I.; Wada, J.; Masuzaki, H.; Yoneda, M., Nakajima, A.; Miyazaki, S., Tokunaga, K.; Kawamoto, M.; Funahashi . T.; Hamaguchi, K.; Yamada, K.; Hanafusa, T.; Oikawa, S.; Yoshimatsu, H.; Nakao, K.; Sakata, T.; Matsuzawa, Y.; Tanaka, K.; Kamatani, N.; Nakamura, Y. (2008). Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet.*, (6):546-53.

Hotta, K.; Kitamoto, T.; Kitamoto, A.; Mizusawa, S.; Matsuo, T.; Nakata, Y.; Kamohara, S.; Miyatake, N.; Kotani, K.; Komatsu, R.; Itoh, N.; Mineo, I.; Wada, J.; Yoneda, M.; Nakajima, A.; Funahashi, T.; Miyazaki, S.; Tokunaga, K.; Masuzaki, H.; Ueno, T., Hamaguchi, K., Tanaka, K., Yamada, K., Hanafusa, T.; Oikawa, S.; Yoshimatsu, H.; Sakata, T.; Matsuzawa, Y.; Nakao, K.; Sekine, A. (2011). Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. *J Hum Genet.*, 56(9):647-51

Hu, C.; Zhang, R.; Wang, C.; Wang, J.; Ma, X.; Lu, J.; Qin, W.; Hou, X.; Wang, C.; Bao, Y.; Xiang, K.; Jia, W. (2009). PPARG, KCNJ11, CDKAL1, CDKN2A-CDKN2B, IDE-KIF11-HHEX, IGF2BP2 and SLC30A8 are associated with type 2 diabetes in a Chinese population. *PLoS One.*, 4(10):7643

Hunt, S. C.; Stone, S.; Xin. Y.; Scherer, C. A.; Magness, C. L.; Iadonato, S. P.; Hopkins, P. N.; Adams, T. D.(2008) Association of the FTO gene with BMI. *Obesity*, 16:902-904.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes

e adultos no Brasil. (2010). Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)/ Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Ministério da Saúde. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Rio de Janeiro, Brazil: IBGE; 2004

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)/ UNICEF. Perfil estatístico de crianças e mãe no Brasil: aspectos nutricionais, 1974-1975. Rio de Janeiro, Brazil IBGE; 1982.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)/ UNICEF. Perfil estatístico de crianças e mãe no Brasil: aspectos nutricionais, 1989. Rio de Janeiro, Brazil IBGE; 1992.

International Diabetes Federation (IDF). 2005. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Disponível em <[http://www.idf.org/webdata/docs/MetSyndrome\\_FINAL.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/MetSyndrome_FINAL.pdf)> Acesso: 18 jul. 2014.

Jaziri, R.; Lobbens, S.; Aubert, R.; Péan, F.; Lahmidi, S.; Vaxillaire, M.; Porchay, I.; Bellili, N.; Tichet, J.; Balkau, B.; Froguel, P.; Marre, M.; Fumeron, F.; DESIR Study Group. (2006). The PPAR $\gamma$  Pro12Ala polymorphism is associated with a decreased risk of developing hyperglycemia over 6 years and combines with the effect of the APM1 G-11391A single nucleotide polymorphism: the Data From an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) study. *Diabetes.*, 55(4):1157-62.

Jia, J. J.; Tian, Y. B.; Cao, Z. H.; Tao, L. L.; Zhang, X.; Gao, S. Z.; Ge, C. R.; Lin, Q. Y.; Jois, M. (2010). The polymorphisms of UCP1 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. *Mol. Biol. Rep.*, 37(3):1513-22.

Katsuura-Kamano, S., Uemura, H., Arisawa, K., Yamaguchi, M., Hamajima, N., Wakai, K., Okada, R., Suzuki, S., Taguchi, N., Kita, Y., Ohnaka, K., Kairupan, T. S., Matsui, D., Oze, I., Mikami, H., Kubo, M., Tanaka, H. (2014). A polymorphism near MC4R gene (rs17782313) is associated with serum triglyceride levels in the general Japanese population: the J-MICC Study. *Endocrine.*, 47(1):81-9.

Kaur, J. (2014). A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.*, 943162, 21 pages.

Kolovou, G. D.; Kolovou, V.; Kostakou, P. M.; Mavrogeni, S. (2014). Body mass index, lipid metabolism and estrogens: their impact on coronary heart disease. *Curr Med Chem.*, 21(30):3455-65.

Kopelman, P. G. (2000). Obesity as a medical problem. *Nature.*, 6;404(6778):635-43.

Kurokawa, N.; Jovem, E. H.; Oka, Y.; Satoh, H.; Wareham, N. J.; Sandhu, M. S.; Loos, R. J. (2008). O ADRB3 variante Trp64Arg e IMC: uma meta-análise de 44 833 indivíduos. *Int J Obes (Lond).*, 32 (8): 1240-9.

Labayen, I.; Ruiz, J.R.; Moreno, L. A.; Ortega, F. B.; Beghin, L.; De Henauw, S.; Benito, P. J.; Diaz, L. E.; Ferrari, M.; Moschonis, G.; Kafatos, A.; Molnar, D.; Widhalm, K.; Dallongeville, J.; Meirhaeghe, A.; Gottrand, F.; HELENA study group. (2011). The effect of ponderal index at birth on the relationships between common LEP and LEPR polymorphisms and adiposity in adolescents. *Obesity (Silver Spring).*, 19(10):2038-45.

Lafontan, M.; Berlan, M. (1993). Fat cell adrenergic receptors and the control of White and Brown fat cell function. *J Lipid Res.*, 34(7):1057-91.

Lee, M. J.; Wu, Y.; Fried, S. K. (2013). Adipose Tissue Heterogeneity: Implication of depot differences in adipose tissue for Obesity Complications. *Mol Aspects Med.*, 34(1): 1–11

Lee, M.; Wardlaw, S. L. (2007). The central melanocortin system and the regulation of energy balance. *Front Biosci.*, 1;12:3994-4010.

Lee, Y. S. (2012). Melanocortin 3 receptor gene and melanocortin 4 receptor gene mutations: the Asian Perspective. *Diabetes Metab Res Rev.*, Suppl. 2:26-31.

Lee, E. B & Mattson, M. P (2014). The neuropathology of obesity: insights from human disease. *Acta Neuropathologica.*, 127: 3-28.

Lefebvre, A. M.; Laville, M.; Vega, N.; Riou, J. P.; van Gaal, L.; Auwerx, J.; Vidal H. (1998). Depot-specific differences in adipose tissue gene expression in lean and obese subjects. *Diabetes.*, 47(1):98-103.

Lehninger, N. *Princípios de Bioquímica*, 3ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

Leibel, R. L. (2002). The role of leptin in the control of body weight. *Nutr Rev.*, 60(10 Pt 2):S15-9; discussion S68-84, 85-7.

León-Mimila, P.; Villamil-Ramírez, H.; Villalobos-Comparán, M.; Villarreal-Molina, T.; Romero-Hidalgo, S.; López-Contreras, B.; Gutiérrez-Vidal, R.; Vega-Badillo, J.; Jacobo-Albavera, L.; Posadas-Romeros, C.; Canizalez-Román, A.; Río-Navarro, B. D.; Campos-Pérez, F.; Acuña-Alonzo, V.; Aguilar-Salinas, C.; Canizales-Quinteros, S. (2013). Contribution of common genetic to obesity and obesity-related traits in mexican children and adults. *PLoS One.*, 8;8 (8): e 70640.

Li, H.; Wu, Y.; Loos, R. J.; Hu, F. B.; Liu, Y.; Wang, J.; Yu, Z.; X, Lin . (2008). Variants in the fat mass- and obesity-associated (FTO) gene are not associated with obesity in a Chinese Han population. *Diabetes.*, (1):264-8.

Liu, Y. J.; Rocha-Sanchez, S. M.; Liu, P. Y.; Longo, J. R.; Lu, Y.; L, Elze.; Recker, R. R.; Deng, H. W. (2004). Tests of linkage and/or association of the LEPR gene polymorphisms with obesity phenotypes in Caucasian nuclear families. *Physiol Genomics.*, 13; 17 (2): 101-6.

Liu, Z.; Q, Mo, W.; Huang, Q.; Zhou, H. (2007). Genetic polymorphisms of human  $\beta$  Adrenergic receptor genes and their association with obesity. *J Cent South Univ (Med Sci).*, 32 (3): 0359-09.

Loos R.J., Lindgren C.M., Li S., Wheeler E., Zhao J.H., Prokopenko I., Inouye M., Freathy R.M., Attwood A.P., Beckmann J.S., *et al.* (2008). Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat. Genet.*, 40:768–775.

Loos, R. (2009). Recent progress in the genetics of common obesity. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 68: 811–829.

Lourenço, B. H.; Qi, L.; Willett, W. C.; Cardoso, M. A.; ACTION Study Team. (2014). FTO genotype, vitamin D status, and weight gain during childhood. *Diabetes.*, 63(2):808-14

Lowell, B. B.; Spiegelman, B. M. (2000). Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature.*, 404(6778):652-60.

Malik, G. S.; Saraswati, M. R.; Suastika, K.; Trimarsanto, H.; Oktavianthi, S.; Sudoyo, H. (2011). Association of beta3-adrenergic receptor (ADRB3) Trp64Arg gene polymorphism with obesity and metabolic syndrome in the Balinese: a pilot study. *BMC Research Notes.*, 4:167.

Mancini, M. C. (2001). Obstáculos diagnósticos e desafios terapêuticos no paciente obeso. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.*, 45(6), 584-608.

Martínez-Hernández, A.; Enríquez, L.; Moreno-Moreno, M. J.; Martí, A. (2007). Genetics of obesity. *Public Health Nutr.*, 10(10A):1138-44.

Mattevi, V. S.; Zembrzuski, V. M.; Hutz, M. H.; (2007). Effects of a *PPARG* gene variant on obesity characteristics in Brazil. *Braz J Med Biol Res.*, (7):927-32.

Mattevi, V. S.; Zembrzuski, V. M.; Hutz, M. H. (2002). Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord.*, 26(9):1179-85.

Mattevi, V. S.; Zembrzuski, V. M.; Hutz, M. H. (2006). Impact of variation in *ADRB2*, *ADRB3*, and *GNB3* genes on body mass index and waist circumference in a Brazilian population. *Am J Hum Biol.*, 18(2):182-6.

Ministério da Saúde. VIGITEL Brasil. (2011). Short term trends of obesity using data of the telephone based surveillance system of risk and protective factors for chronic disease (VIGITEL), Brazil, 2006 to 2009. *J Epidemiol Community Health*, Vol 65.

Mohamed, M. B.; Mtiraoui, N.; Ezzidi, I.; Chaieb, M.; Mahjoub, T.; Almawi W. Y. (2007). Association of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala but not the C1431T gene variants with lower body mass index in Type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest.*, 30(11):937-43.

Moon, M. K.; Cho, Y. M.; Jung, H. S.; Park, Y.J.; Yoon, K.H.; Sung, Y. A.; Park, B. L.; Lee, H. K.; Park, K. S.; Shin, H. D. (2005). Genetic polymorphisms in peroxisome proliferator-activated receptor gamma are associated with Type 2 diabetes mellitus and obesity in the Korean population. *Diabet Med.*, (9):1161-6.

Morini, E.; Tassi, V.; Capponi, D.; Ludovico, O.; Dallapiccola, B.; Trischitta, V.; Pruden, E. S. (2008). Interaction between *PPARgamma2* variants and gender on the modulation of body weight. *Obesity (Silver Spring).*, (6):1467-70.

Murugesan, D.; Arunachalam, T.; Ramamurthy, V.; Subramanian, S. (2010). Association of polymorphisms in leptin receptor gene with obesity and type 2 diabetes in the local population of Coimbatore. *Indian J Hum Genet.*, 16(2):72-7

Mutch, D. M.; Clément, K. (2006). Genetics of human obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, 20(4):647-64.

Neel, J. V. (1962). Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet.*, 14:353-62.

Neto, G. M, 2014. Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo (Socesp). Disponível em: <<http://geraldomedeirosneto.com.br>> Acesso em: 03 ago. 2014

Newell, A.; Zlot, A.; Silvey, K.; Arail, K. (2007). Addressing the obesity epidemic: a genomics perspective. *Prev. Chronic. Dis.*, 4(2): A31.

Nguyen, D. M.; El-Serag, H. B. (2010). The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am.*, 39 (1): 1-7

Nübel, T.; Ricquier, D. (2006). Respiration under control of uncoupling proteins: Clinical perspective. *Horm. Res.*, 65(6):300-1

Ochoa, M. C.; Marti, A.; Azcona, C.; Chueca, M.; Oyarzábal, M.; Pelach, R.; Patiño, A.; Moreno-Aliaga, M. J.; Martínez-González, M. A.; Martínez, J. A.; Grupo de Estudio Navarro de Obesidad Infantil (GENOI). (2004). Gene-gene interaction between PPAR gamma 2 and ADR beta 3 increases obesity risk in children and adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord.*, 3:S37-41.

Oguri, K.; Tachi, T.; Matsuoka, T. (2013). Visceral fat accumulation and metabolic syndrome in children: the impact of Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Acta Paediatr.*, 102(6):613-9.

Ohashi, J.; Naka, I.; Kimura, R.; Natsuhara, K.; Yamauchi, T.; Furusawa, T.; Nakazawa, M.; Ataka, Y.; Patarapotikul, J.; Nuchnoi, P.; Tokunaga, K.; Ishida, T.; Inaoka, T.; Matsumura, Y.; Ohtsuka, R. (2007). FTO polymorphisms in oceanic populations. *J Hum Genet.*, 52(12):1031-5.



Oliveira, R. d.; Cerda, A.; Genvigir, F.D.; Sampaio, M. F.; Armaganijan, D.; Bernik, M. M.; Dorea, E. L.; Hirata, M. H.; Hinuy, H. M.; Hirata, R. D. (2013). Leptin receptor gene polymorphisms are associated with adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*, 57(9):677-84.

Osborn, D. P.; Roccasecca, R. M.; McMurray, F., Hernandez-Hernandez, V.; Mukherjee, S.; Barroso, I.; Stemple, D.; Cox, R.; Beales, P. L.; Christou-Savina, S. (2014). Loss of FTO antagonises Wnt signaling and leads to developmental defects associated with ciliopathies. *PLoS One.*, 4;9(2):e87662.

Park. A.; Kim, W. K.; Bae, K. H. (2014). Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells.*, 26;6(1):33-42.

Pausova, Z., Syme, C., Abrahamowicz, M., Xiao, Y., Leonard, G. T., Perron, M., Richer, L., Veillette, S., Smith, G. D., Seda, O., Tremblay, J., Hamet, P., Gaudet, D., Paus, T. (2009). A common variant of the FTO gene is associated with not only increased adiposity but also elevated blood pressure in French Canadians. *Circ Cardiovasc Genet.*, 2(3):260-9.

Peeters, A.; Beckers, S.; Verrijken, A.; Roevens, P.; Peeters, P.; Van Gaal, L.; Van Hul, W. (2008). Variants in the FTO gene are associated with common obesity in the Belgian population. *Mol Genet Metab.*, (4): 481-4.

Pena, S. D.; Di Pietro, G.; Fuchshuber-Moraes, M.; Genro, J. P.; Hutz, M. H.; Kehdy, F. de S.; Kohlrausch, F.; Magno, L. A.; Montenegro, R. C.; Moraes, M. O.; de Moraes, M. E.; de Moraes, M. R.; Ojopi, E. B.; Perini, J. A.; Racciopi, C.; Ribeiro-Dos-Santos, A. K.; Rios-Santos, F.; Romano-Silva, M. A.; Sortica, V. A.; Suarez-Kurtz, G. (2011). The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One.*, 16;6(2): e17063.

Perfetti, R.; Hui, H.; Chamie, K.; Binder, S.; Seibert, M.; McLenithan, J.; Silver, K.; Walston, J. D. (2001). Pancreatic beta cells expressing the Arg64 variant of the (3)-adrenergic receptor exhibit abnormal insulin secretory activity. *J Mol Endocrinol.*, 27(2):133-44.

Pérusse, L.; Rankinen, T.; Zuberi, A.; Chagnon, Y. C.; Weisnagel, S. J.; Argyropoulos, G.; Walts, B.; Snyder, E. E.; Bouchard, C. (2005). The human obesity gene map: The 2004 update. *Obes Res.*, (3):381-490.

Peters, T.; Ausmeier, K.; Rütter, U. (1999). Cloning of Fatso (Fto), a novel gene deleted by the Fused toes (Ft) mouse mutation. *Mamm Genome*. 1999 Oct;10(10):983-6.

Pi-Sunyer, F. X. (2000). Obesity: criteria and classification. *Proc. Nutr. Soc.* 59(4):505-9.

Prakash, J.; Srivastava, N.; Awasthi, S.; Agarwal, C. G.; Natu, S. M.; Rajpal, N.; Mittal, B. (2011). Association of FTO rs17817449 SNP with obesity and associated physiological parameters in a north Indian population. *Ann Hum Biol.*, (6):760-3.

Qi, L.; Cho, Y. A. (2008). Gene-environment interaction and obesity. *Nutr Rev.*, 66(12):684-94

Qi, L.; Kraft, P.; Hunter, D. J.; Hu, F. B. (2008). The common obesity variant near MC4R gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight change and diabetes risk in women. *Hum Mol Genet.*, (22): 3502-8.

Queiroz, J. C.; Alonso-Vale, M. I.; Curi, R.; Lima, F. B. (2009). Controle da adipogênese por ácidos graxos. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, (5):582–594.

Raman, P.; Koenig, R. J. (2014). Pax-8-PPAR- $\gamma$  fusion protein in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol.*, doi: 10.1038/nrendo.2014.115

Ramos, A. V.; Bastos-Rodrigues, L.; Resende, B. A.; Friedman, E.; Campanha-Versiani, L.; Miranda, D. M.; Sarquis, M.; De Marco, L. (2012). The contribution of FTO and UCP-1 SNPs to extreme obesity, diabetes and cardiovascular risk in Brazilian individuals. *BMC Med Genet.*, 7;13:101.

Rankinen, T.; Zuberi, A.; Chagnon, Y. C.; Weisnagel, S. J.; Argyropoulos, G.; Walts B.; Pérusse L.; Bouchard, C. (2006). The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity.*,14(4):529-644.

Raucci, R.; Rusolo, F.; Sharma, A.; Colonna, G.; Castello, G.; Costantini, S. (2013). Functional and structural features of adipokine family. *Cytokine.*, (1):1-14

Rodrigues, A. S.; Trindade, E. B. S. M., (2006). Mecanismos neuroendócrinos no desenvolvimento da síndrome metabólica. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica.*, v.21; n:4.

Rosen, E. D.; Hsu, C. H.; Wang, X.; Sakai, S.; Freeman, M. W.; Gonzalez, F. J.; Spiegelman, B. M. (2002). C/EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: a unified pathway. *Genes Dev.*,1;16(1):22-6.

Rosenwald, M.; Wolfrum, C. (2014). The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte.*, 1; 3 (3): 4-9.

Rosmond, R.; Chagnon, Y. C.; Holm, G.; Chagnon, M.; Pérusse, L.; Lindell, K.; Carlsson, B.; Bouchard, C.; Björntorp, P. (2000). Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *J Clin Endocrinol Metab.*, 85(9):3126-31.

Saely, C. H.; Geiger, K.; Drexel, H.(2012). Brown versus White Adipose Tissue: A Mini-Review. *Gerontology.*, 58:15–23.

Santini, F.; Maffei, M.; Pelosini, C.; Salvetti, G.; Scartabelli, G.; Pinchera, A. (2009). Melanocortin-4 receptor mutations in obesity. *Adv Clin Chem.*, 48:95-109.

Santos, J. L.; Martínez, J. A.; Pérez, F.; Albala, C. (2005). [Genetic epidemiology of obesity: family studies]. *Rev Med Chil.*, 133(3):349-61

Saukko, M.; Kesäniemi, Y. A.; Ukkola, O. (2010). Leptin receptor Lys109Arg and Gln223Arg polymorphisms are associated with early atherosclerosis. *Metab Syndr Relat Disord.*, 8(5):425-30.

Schwartz, M. W.; Stephen, C. W.; Daniel, P.; Seeley, R. J.; Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature.*, 404:661-671.

Shawky, R. M.; Sadik, D. I. (2012). Genetics of obesity. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics.*, 13: 11–17.

Snyder, E. E.; Walts, B.; Perusse, L; Chagnon, Y. C.; Weisnagel, S. J.; Rankinen, T. et al., . (2004). The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res*;12(3):369-439.

Sobrinho Crespo. C.; Perianes Cachero. A.; Puebla Jiménez. L.; Barrios, V.; Arilla Ferreiro, E. (2014). Peptides and food intake. *Front Endocrinol (Lausanne)*., 24;5:58

Spiegelman, B. M.; Flier, J. S. (2001). Obesity and the regulation of energy balance. *Cell.*, 104(4):531-43.

Srivastava, A.; Mittal, B.; Prakash, J.; Narain, V. S.; Natu, S. M.; Srivastava, N. (2014). Evaluation of MC4R [rs17782313, rs17700633], AGRP [rs3412352] and POMC [rs1042571] Polymorphisms with Obesity in Northern India. *Oman Med J.*, (2): 114-8.

Stefan, M.; Nicholls, R. D. (2004). What have rare genetic syndromes taught us about the pathophysiology of the common forms of obesity?. *Curr Diab Rep.*, 4(2):143-50.

Sundaramurthy, D.; Campbell, D. A.; Leek, J. P.; Markham, A. F.; Pieri, L. F. (1998). Assignment of the melanocortin 4 receptor (MC4R) gene to human chromosome band 18q22 by in situ hybridisation and radiation hybrid mapping. *Cytogenet. Cell Genet.* 82: 97-98.

Swarbrick, M. M.; Chapman, C. M.; McQuillan, B. M.; Hung, J.; Thompson P. L.; Beilby, J. P. (2001). A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. *Eur J Endocrinol.*, 144(3): 277-82.

Tabara, Y.; Osawa, H.; Guo, H.; Kawamoto, R.; Onuma, H.; Shimizu, I.; Takara, Y.; Nishida, W.; Yamamoto, M.; Makino, H.; Kohara, K.; Miki, T. (2009). Prognostic significance of FTO genotype in the development of obesity in Japanese: the J-SHIPP study. *Int J Obes (Lond)*. (11):1243-8.

Tabassum, R.; Mahendran, Y.; Dwivedi, O. P.; Chauhan, G.; Ghosh, S.; Marwaha, R. K.; Tandon, N.; Bharadwaj, D. (2012). Common variants of IL6, LEPR, and PBEF1 are associated with obesity in Indian children. *Diabetes*. 61(3): 626-31.

Tankó, L. B.; Siddiq, A.; Lecoeur, C.; Larsen, P.J.; Christiansen, C.; Walley, A.; Froguel, P. (2005). ACDC/adiponectin and PPAR-gamma gene polymorphisms: implications for features of obesity. *Obes Res.*,(12):2113-21.

Tao, L.; Zhang, Z.; Chen, Z.; Zhou, D.; Li, W.; Kan, M.; Zhang, D.; He, L.; Huang, G.; Liu, Y.; (2012). A Common variant near the melanocortin 4 receptor is associated with low-density lipoprotein cholesterol and total cholesterol in the Chinese Han population. *Mol Biol Rep.*, (6):6487-93.

Tao, Y.X. (2010). The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocr Rev.*, 31(4):506-43.

Tavares, V.; Hirata, R. D.; Rodrigues, A. C.; Monte, O.; Salles, J. E.; Scalissi, N.; Speranza, A. C.; Hirata, M. H. (2005). Association between Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma2 gene and insulin sensitivity in Brazilian patients with type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab.*, (5):605-11.

Tchernof, A.; Starling, R. D.; Walston, J. D.; Shuldiner, A. R.; Dvorak, R. V.; Silver K; Matthews, D. E.; Poehlman, E. T. (1999). Obesity-related phenotypes and the beta3-adrenoceptor gene variant in postmenopausal women. *Diabetes.* 48(7):1425-8.

Terra, X.; Auguet, T.; Porras, J. A.; Quintero, Y.; Aguilar, C.; Luna, A. M.; Hernández, M.; Sabench, F.; del Castillo, D.; Richart, C. (2011). Anti-inflammatory profile of FTO gene expression in adipose tissues from morbidly obese women. *Cell Physiol Biochem.*, 26(6):1041-50.

Thompson, D. B.; Ravussin, E.; Bennett, P. H.; Bogardus, C. (1997). Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet.*, 6(5):675-9

Toruner, F.; Akbay, E.; Cakir, N.; Sancak, B.; Elbeg, S.; Taneri, F.; Aktürk M.; Karakoç, A.; Ayvaz, G.; Arslan, M. (2004). Effects of PPARgamma and PPARalpha agonists on serum leptin levels in diet-induced obese rats. *Horm Methb Res.*, 36:226–30.

Tung, Y. C.; Yeo, G. S. (2011). De GWAS para a biologia: lições do FTO . *Ann NY Acad Sci.*, 1220: 162-71.

Umekaea, T.; Yoshida, T.; Sakane, N. *et al.* (1999). Trp64Arg mutation of beta 3-adrenoceptor gene deteriorates lipolysis induced by beta 3-adrenoceptor agonist in human omental adipocytes. *J Diabetes.*, 48(1):117-120.

Van der Hoeven, F.; Schimmang, T.; Volkmann, A.; Mattei, M. G.; Kyewski, B.; Rüther, U. (1994). Programmed cell death is affected in the novel mouse mutant Fused toes (Ft). *Development.*, (9):2601-7.

Vetter, M.L.; Faulconbridge, L. F.; Webb, V. L.; Wadden, T. A. (2010). Behavioral and pharmacologic therapies for obesity. *Nat Rev. Endocrinol.*, 10: 578-88.

Vidal-Puig, A.J.; Considine, R. V.; Jimenez-Liñan, M.; Werman, A.; Pories, W. J.; Caro, J. F.; Flier, J. S. (1997). Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *J Clin Invest.*, (10):2416-22.

Vimalleswaran, K.S.; Li, S.; Zhao, J. H.; Luan, J.; Bingham, S. A.; Khaw, K. T.; Ekelund, U.; Wareham, N. J.; Loos, R. J. (2009). Physical activity attenuates the body mass index-increasing influence of genetic variation in the FTO gene. *Am J Clin Nutr.*, (2):425-8.

Virtanen, K.A.; Lidell, M. E.; Orava, J.; Heglind, M.; Westergren, R.; Niemi, T.; Taittonen, M.; Laine, J.; Savisto, N. J.; Enerbäck, S.; Nuutila, P. (2009). Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med.*, 9;360(15):1518-25.

Wajchenberg, B. L. (2000). Tecido adiposo como glândula endócrina. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.*, 44(1), 13-20.

Walley, A. J.; Asher, J. E.; Froguel, P. (2009). The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nature Reviews. Genetics*, 10(7), 431–442.

Walston, J.; Silver, K.; Hilfiker, H.; Andersen, R. E.; Seibert, M.; Beamer, B.; Roth, J.; Poehlman, E.; Shuldiner, A. R. (2000). Insulin response to glucose is lower in individuals homozygous for the Arg64 variant of the beta-3-adrenergic receptor. *J Clin Endocrinol Metab.*, 85(11):4019-22.

Wardle, J.; Carnell, S.; Haworth, C. M.; Farooqi, É.; O'Rahilly, S.; Plomin, R. (2008). Obesity associated genetic variation in FTO is associated with diminished satiety. *J Clin Endocrinol Metab.*, 93 (9): 3640-3.

Winter Y.; Back, T.; Scherag, A.; Linseisen, J.; Rohrmann, S.; Lanczik, O.; Hinney, A.; Scherag, S.; Neumaier, M.; Ringleb, P. A.; Dodel, R.; Hebebrand J. (2011). Evaluation of the obesity genes FTO and MC4R and the type 2 diabetes mellitus

gene TCF7L2 for contribution to stroke risk: The Mannheim-Heidelberg Stroke Study. *Obes Facts.*, 4(4):290-6.

Woehning, A.; Schultz, J. H., Roeder, E., Moeltner, A., Isermann, B., Nawroth, P. P., Wolfrum, C., Rudofsky, G. (2013). The A-allele of the common FTO gene variant rs9939609 complicates weight maintenance in severe obese patients. *Int J Obes.*, 37(1):135-9.

World Health Organization (WHO). (1995/2000/2004) BMI Classification. Disponível em: <[http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html)> Acesso: 21 abr. 2014.

World Health Organization (WHO). (2008). Waist Circumference and Waist-Hip Ratio Report of a WHO Expert Consultation. *World Health.*, 8–11.

World Health Organization (WHO). (2013). Obesity and overweight. What are overweight and obesity? Disponível em: <<http://who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/print.html>> Acesso em: 25 mai. 2014.

Wu, J.; Cohen, P.; Spiegelman, B. M. (2013). Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes Dev.*, 1; 27: 234-250.

Xavier, H. T.; Izar, M. C.; Faria, Neto. J. R.; Assad, M. H.; Rocha, V. Z.; Sposito, A. C.; Fonseca, F. A.; dos Santos, J. E.; Santos, R. D.; Bertolami, M. C.; Faludi, A. A.; Martinez, T. L. R.; Diament, J.; Guimarães, A.; Forti, N. A.; Moriguchi, E.; Chagas, A. C. P.; Coelho, O. R.; Ramires, J. A. F.; Sociedade Brasileira de Cardiologia. (2013). V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.*, 101: 4.1.

Xi, B.; Chandak, G. R.; Shen, Y.; Wang, Q.; Zhou, D. (2012). Association between common polymorphism near the MC4R gene and obesity risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.*, 7(9): 45731.

Xia, Q.; Grant, S. F. (2013). The genetics of human obesity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1281: 178-190

Xiang, Z.; Proneth, B.; Dirain, M. L.; Litherland, S. A.; Haskell-Luevano, C. (2010). Pharmacological characterization of 30 human melanocortin-4 receptor

polymorphisms with the endogenous proopiomelanocortin-derived agonists, synthetic agonists, and the endogenous agouti-related protein antagonist derived agonists. *Biochemistry.*, 8;49(22):4583-600.

Yang, C. W.; Li, C. I.; Liu, C. S.; Bau, D. T.; Lin, C. H.; Lin, W. Y.; Li, T. C.; Lin, C. C. (2013). The joint effect of cigarette smoking and polymorphisms on LRP5, LEPR, near MC4R and SH2B1 genes on metabolic syndrome susceptibility in Taiwan. *Mol Biol Rep.*, 40(1):525-33.

Yen, C. J.; Beamer, B. A.; Negri, C.; Silver, K.; Brown, K. A.; Yarnall, D. P.; Burns, D. K.; Roth, J.; Shuldiner, A. R. (1997). Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun.*, 241(2):270-4.

Yiannakouris, N.; Yannakoulia, M.; Melistas, L.; Chan, J. L.; Klimis-Zacas, D.; Mantzoros, C. S. (2001). The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *J Clin Endocrinol Metab.*, 86(9):4434-9.

Yilmaz, Z.; Davis, C.; Loxton, N. J.; Kaplan, A. S.; Levitan, R. D.; Carter, J. C.; Kennedy, J. L. (2014). Association between MC4R rs17782313 polymorphism and overeating behaviors., *Int J Obes (Lond).*, (10):1038

Yoshioka, K., Yoshida, T., Sakane, N., *et al.* (1996). Association of Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene with NIDDM, current and maximal body mass index. *Diabetologia.*, 39(11):1410-1411.

Young, E. H.; Wareham, N. J.; Farooqi, S.; Hinney, A.; Hebebrand, J.; Scherag, A.; O'rahilly, S.; Barroso, I.; Sandhu, M.S. (2007). The V103I polymorphism of the MC4R gene and obesity: population based studies and meta-analysis of 29 563 individuals. *Int J Obes (Lond).*, 31(9):1437-41.

Zandoná, M.R.; Rodrigues, R. O.; Albiero, G.; Campagnolo, P. D.; Vitolo, M. R.; Almeida, S.; Mattevi, V. S. (2013). Polymorphisms in LEPR, PPARG and APM1 genes: associations with energy intake and metabolic traits in young children. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*, 57(8):603-11.



Zandoná, Marília R. Análise da influência de polimorfismos nos genes LEP, LEPR, APM1, PPARG e UCP1 sobre obesidade e fenótipos relacionados em uma coorte de crianças. 2010. 91f. Dissertação (mestrado em Patogênese e Fisiopatologia) – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Porto Alegre, 2010.

Zhang, W, Cline MA, Gilbert ER. (2014) Hypothalamus – adipose tissue crosstalk: neuropeptide and regulation of energy metabolism. *Nutrition & Metabolism* 11: 27

Zhang, Y.; Proença, R.; Maffei, M.; Barone, M.; Leopold, L.; Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.*, 372:425-32.

## IX. ANEXOS

### ANEXO A

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

##### RISCO CARDIOVASCULAR E SISTEMA ENDOCANABINOIDE

##### *Avaliando possíveis associações Genético-moleculares e Clínicas*

Prezado (a),

Você está sendo convidado pelo seu médico para participar de um estudo clínico, que não implica na utilização de medicamentos. Antes de fornecer seu consentimento, solicitamos que você leia estas informações cuidadosamente. Este documento tem como finalidade informá-lo de tudo que você precisa saber com relação ao estudo do qual você irá, caso aceite, participar. É importante que você leia e compreenda os procedimentos propostos. Utilize o tempo que for necessário para fazer todas as perguntas que desejar. O médico/equipe de estudo lhe explicará todas as palavras ou informações que não estejam claras para você.

##### **QUAL É O OBJETIVO DO ESTUDO? QUANTAS PESSOAS PARTICIPARÃO DESTE ESTUDO?**

O estudo está planejado para avaliar 100 indivíduos eutróficos (magros) e 100 indivíduos obesos e comparar a influência de suas características genéticas sobre os fatores de risco cardiovascular, ou seja, sobre o risco de desenvolvimento de doenças cardíacas e vasculares [hipertensão arterial (pressão alta), doença coronariana (angina de peito e infarto) e doença vascular cerebral (isquemia e derrame)].

Também serão avaliados os níveis de algumas substâncias no sangue (endocanabinoides, adipocitocinas, grelina e marcadores inflamatórios), que possuem importante relação com as doenças cardiovasculares descritas.

##### **POR QUE FUI ESCOLHIDO?**

Seu médico do estudo (o médico que conduz o estudo) acredita que você satisfaça as exigências iniciais para participar do estudo.

##### **EU SOU OBRIGADO A PARTICIPAR?**

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você tem o direito de deixar este estudo a qualquer momento. A sua recusa em participar (ou a descontinuação do estudo) não lhe trará nenhuma penalidade. Da mesma forma, não comprometerá o compromisso com os cuidados médicos que devem ser prestados a você e não resultará em perda de benefícios que você porventura possua. Mesmo que você tenha dado o consentimento, você poderá ser retirado deste estudo se:

- você não seguir os procedimentos do estudo,
- na opinião do médico do estudo, for de interesse para a sua saúde,
- o estudo tiver que ser encerrado por qualquer razão.

Seu médico do estudo irá lhe aconselhar quanto às recomendações para mudanças no estilo de vida e/ou necessidade de tratamento porventura indicados após o estudo.

### **O QUE ACONTECERÁ COMIGO SE EU DECIDIR PARTICIPAR?**

**Na visita de triagem**, se você concordar em participar (após ler e assinar este Termo de Consentimento), o médico do estudo lhe questionará sobre sua história médica, tal como medicações (com ou sem prescrição, incluindo vitaminas e suplementos naturais) que você esteja utilizando ou utilizou anteriormente. Caso esteja em uso de medicação, você somente participará da pesquisa se o médico do estudo considerar que a medicação possa ser retirada, sem riscos para sua saúde, pelo período de 2 semanas. Nesta visita você responderá questões sobre sua ingestão de alimentos e sua atividade física. Sua altura, peso, circunferência abdominal, pressão sanguínea e frequência cardíaca serão medidas e registradas. Além disso, será agendada uma coleta de sangue para determinar os parâmetros bioquímicos (glicemia – taxa de açúcar no sangue; creatinina – para avaliar a função do rim; lipidograma – colesterol total, HDL colesterol e triglicérides; hemograma completo; e provas de função hepática – transaminases e fosfatase alcalina). As amostras de sangue (aproximadamente 15 ml, equivalente a uma colher de sopa) para estes testes de laboratório serão coletadas pela manhã, em jejum de pelo menos 12 horas, utilizando material descartável.

Na **segunda visita**, para a qual você será convidado se houver atendido aos critérios de inclusão, será realizado um exame físico completo, incluindo a determinação dos níveis de pressão arterial por método clínico e avaliação antropométrica (altura, peso, circunferência abdominal e circunferência de quadril). Também será realizada nova coleta de sangue para a determinação das variáveis do estudo: polimorfismos genéticos, níveis dos endocanabinoides, insulina, leptina, adiponectina de alto peso molecular, grelina acilada, PCR ultrasensível, TNFalfa, interleucina 6, lipidograma, glicemia, creatinina e ácido úrico. A determinação dos níveis de endocanabinoides será realizada em amostra de sangue que será enviada ao Laboratório do Instituto de Química Biomolecular do Conselho Nacional de Pesquisa do governo italiano.

### **QUAIS SÃO OS RISCOS DO ESTUDO?**

Durante a coleta de sangue, você poderá sentir leve dor ou apresentar pequeno sangramento ou hematoma (mancha roxa) no local do seu braço onde o sangue é tirado.

### **QUAIS SÃO OS POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DE MINHA PARTICIPAÇÃO?**

Durante este estudo, você se beneficiará com o acompanhamento médico e com a determinação de seu risco de desenvolver problemas cardiovasculares, permitindo, se for o caso, orientação e tratamento precoces. Os investigadores esperam que as informações obtidas neste estudo possam, no futuro, beneficiar outros pacientes com os mesmos fatores de risco e problemas de saúde. Após o término do estudo, o seu médico lhe orientará sobre os procedimentos de acompanhamento e tratamento que sejam mais adequados à sua condição.

### **QUEM REVISOU ESTE ESTUDO? COMO FICAM OS CUSTOS E MINHA SEGURANÇA?**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto aprovou este documento, bem como o protocolo do estudo para o qual você está sendo convidado a participar. Os dados dessa pesquisa podem vir a ser divulgados/publicados, porém, sua identidade e seus dados pessoais são sigilosos e não serão divulgados sob nenhuma hipótese, ficando garantida a sua privacidade e a confidencialidade das informações prestadas por você durante todo o estudo.

Sua participação neste estudo não terá nenhum custo adicional para você e não trará despesas além daquelas normalmente encontradas por pacientes com as mesmas características e problemas clínicos. Você não receberá nenhum pagamento pela sua participação nesta pesquisa.

**CONTATOS PARA MAIORES INFORMAÇÕES.**

Você receberá uma cópia deste documento de consentimento livre e esclarecido e poderá solicitar mais informações a qualquer momento durante o estudo entrando em contato com Dr. Cyro José de Moraes Martins (celular 99970078), ou Dr. Rogerio Fabris Mangia (celular 99777901), ou ainda Dr. Bruno Miguel Jorge Celoria (celular 76294784).

Você também poderá entrar em contato com o Sr. Marcos Alcoforado no CEP/HUPE (Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto), pelo telefone 2868-8253 se tiver qualquer dúvida com relação aos seus direitos como participante de um estudo de pesquisa.

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Li e compreendi todo o documento de consentimento livre e esclarecido. Recebi explicações sobre a natureza, a finalidade, a duração, o efeito, os riscos previsíveis do estudo e sobre o que é esperado de mim. As minhas perguntas foram respondidas de forma satisfatória. Concordo em participar deste estudo.

\_\_\_\_\_  
(Nome por extenso do Paciente a ser preenchido no momento do consentimento) **(letra de forma)**

\_\_\_\_\_  
Data: \_\_\_\_\_  
(Assinatura do Paciente ou Representante Legal Autorizado a ser preenchido no momento do consentimento)

\_\_\_\_\_  
(Nome por extenso da Testemunha imparcial, se aplicável) **(letra de forma)**

\_\_\_\_\_  
Data: \_\_\_\_\_  
(Assinatura da Testemunha imparcial, se aplicável)

**Médico que conduziu a discussão do Consentimento Livre e Esclarecido**

Confirmo ter explicado pessoalmente a natureza, a finalidade, a duração, os efeitos e os riscos previsíveis do estudo clínico ao indivíduo mencionado acima.

\_\_\_\_\_  
(Nome por extenso do médico a ser preenchido no momento do consentimento) **(letra de forma)**

\_\_\_\_\_  
Data: \_\_\_\_\_  
(Assinatura do médico a ser preenchido no momento do consentimento)

## ANEXO B



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Rio de Janeiro, 27 de abril de 2012

Ilmo. Dr<sup>a</sup>. Gyséle Saddi Tannous  
Coordenadora da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa  
Ministério da Saúde  
Esplanada dos Ministérios  
Brasília, DF.

Prezado Dr<sup>a</sup>,

Estamos encaminhando para a sua apreciação os documentos que fazem parte do projeto de pesquisa intitulado: **(2892-CEP/HUPE – CAAE: 0044.0.228.011-11)** "RISCO CARDIOVASCULAR E SISTEMA ENDOCANABINOIDE - AVALIANDO POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES GENÉTICO-MOLECULARES" a ser realizado no Serviço da Disciplina de Fisiopatologia Clínica e Experimental – CLINEX, Clínica de Hipertensão, do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, sendo responsável pelo estudo o Prof. Emílio Antonio Francischetti.

Esclarecemos que o projeto foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, que aprovou, sem restrições, bem como o termo de Consentimento Livre e Esclarecido a ser assinado pelo paciente.

Atenciosamente,

Prof. Wille Oigman  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital Universitário Pedro Ernesto

CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
AV. VINTE E OITO DE SETEMBRO, 77 TÉRREO - VILA ISABEL - CEP 20551-030  
TEL: 21 2868-8253 - FAX: 21 2264-0853 - Email: cep-hupe@uerj.br

## ANEXO C

Modelo final de regressão múltipla da Circunferência da Cintura sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,958	0,918	0,917	5,568	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	67853,060	4,000	16963,260	547,206	0,000
Resíduo	6044,960	195,000	31,000		
Total	73898,019	199			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizado	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	-8,602	3,420		-2,515	0,013
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	1,755	0,093	0,708	18,788	0,000
RCQ	47,548	4,807	0,258	9,892	0,000
DAS (cm)	0,388	0,157	0,101	2,466	0,015
Idade (anos)	0,053	0,042	0,028	1,265	0,207

Preditores: Constante, Índice de massa corporal (IMC), razão cintura/quadril (RCQ), diâmetro abdominal sagital (DAS), Idade.

Modelo final de regressão múltipla da Circunferência da Cintura sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,403	0,162	0,149	18,348	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	8475,154	2,000	4237,577	12,588	0,000
Resíduo	43763,486	130,000	336,642		
Total	52238,641	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	66,986	6,377		10,504	0,000
Idade (anos)	0,713	0,158	0,364	4,521	0,000
rs1137101 (LEPR)	8,653	3,478	0,200	2,488	0,014

Preditores: Intercepto, Idade, rs1137101 (LEPR).

## ANEXO D

Modelo final de regressão da Razão cintura quadril sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,788	0,622	0,612	0,065	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	1,352	5	0,27	63,747	0,000
Resíduo	0,823	194	0,004		
Total	2,175	199			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizado		P
	b	Erro Padrão	Beta	t	
Intercepto	0,428	0,027		15,999	0,000
CC (cm)	0,007	0,001	1,225	9,63	0,000
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	-0,01	0,002	-0,712	-5,447	0,000
Leptina (ng/dL)	-0,002	0,000	-0,231	-4,069	0,000
DAS (cm)	0,004	0,002	0,207	2,342	0,02
Idade (anos)	0,001	0,000	0,126	2,630	0,009

Preditores: Constante, Circunferência da cintura (CC), Índice de massa corporal (IMC), leptina, razão cintura/quadril (RCQ), diâmetro abdominal sagital (DAS), idade.

Modelo final de regressão múltipla da Razão cintura quadril sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,458	0,209	0,197	0,093	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	0,297	2,000	0,149	17,215	0,000
Resíduo	1,123	130,000	0,009		
Total	1,420	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados		P
	b	Erro Padrão	Beta	t	
Intercepto	0,711	0,032		22,012	0,000
Idade (anos)	0,004	0,001	0,433	5,543	0,000
rs1137101 (LEPR)	0,041	0,018	0,180	2,308	0,023

Preditores: Intercepto, Idade, rs1137101 (LEPR).

## ANEXO E

Modelo final de regressão do Diâmetro abdominal sagital sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão		
	0,87	0,757	0,752	2,494		
Fonte	SQ	gl	QN	F	P	
Regressão	3782,398	4	945,599	152,05	0,000	
Resíduo	1212,708	195	6,219			
Total	4995,106	199				
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b- padronizados	t	P	
	b	Erro Padrão	Beta			
Intercepto	-2,357	1,547		-1,523	0,129	
CC (cm)	0,078	0,032	0,3	2,466	0,015	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0,316	0,066	0,491	4,76	0,000	
RCQ	5,792	2,606	0,121	2,223	0,027	
Idade (anos)	0,033	0,019	0,067	1,73	0,085	

Preditores: Constante, Circunferência da cintura (CC), Índice de massa corporal (IMC), razão cintura/quadril (RCQ), idade.

Modelo final de regressão múltipla do Diâmetro abdominal sagital sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão		
	0,413	0,171	0,158	4,270		
Fonte	SQ	gl	QN	F	P	
Regressão	488,185	2,000	244,092	13,391	0,000	
Resíduo	2369,728	130,000	18,229			
Total	2857,912	132,000				
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P	
	b	Erro Padrão	Beta			
Intercepto	14,259	1,484		9,609	0,000	
Idade (anos)	0,157	0,037	0,341	4,265	0,000	
rs1137101 (LEPR)	2,609	0,809	0,258	3,223	0,002	

Preditores: Intercepto, Idade, rs1137101 (LEPR).



## ANEXO F

Modelo final de regressão da Pressão arterial sistólica sobre as variáveis  
Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,972	0,945	0,944	3,373	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	38090,409	3	12696,803	1115,679	0,000
Resíduo	2230,546	196	11,38		
Total	40320,955	199			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	6,842	2,071		3,304	0,001
PAD (mmHg)	-1,66	0,084	-1,132	-19,838	0,000
PAM (mmHg)	2,638	0,076	1,989	34,66	0,000
Idade (anos)	0,02	0,026	0,014	0,758	0,449

Preditores: Constante, pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM), Idade.

Modelo final de regressão múltipla da Pressão arterial sistólica sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,522	0,272	0,261	12,572	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	7684,746	2,000	3842,373	24,310	0,000
Resíduo	20547,615	130,000	158,059		
Total	28232,361	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	93,869	4,370		21,482	0,000
Idade (anos)	0,672	0,108	0,466	6,214	0,000
rs1137101 (LEPR)	8,560	2,383	0,269	3,592	0,000

Preditores: Intercepto, Idade, rs1137101 (LEPR).

## ANEXO G

Modelo final de regressão da Pressão arterial diastólica sobre as variáveis  
Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	<b>R</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>Erro Padrão</b>	
	0,985	0,971	0,971	1,66	
<b>Fonte</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>QN</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Regressão	18220,308	3	6073,436	2203,259	0,000
Resíduo	540,287	196	2,757		
Total	18760,595	199			
<b>Variáveis independentes</b>	<b>Coefficiente de regressão</b>		<b>b-padronizados</b>	<b>t</b>	<b>P</b>
	<b>b</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>Beta</b>		
Intercepto	1,67	1,04		1,605	0,110
PAM (mmHg)	1,347	0,027	1,489	49,238	0,000
PAS (mmHg)	-0,402	0,02	-0,59	-19,838	0,000
Idade (anos)	0,011	0,013	0,012	0,877	0,382

Preditores: Constante, pressão arterial média (PAM), pressão arterial diastólica (PAS), Idade.

Modelo final de regressão múltipla da Pressão arterial diastólica sobre os polimorfismos

	<b>R</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>Erro Padrão</b>	
	0,464	0,215	0,209	8,685	
<b>Fonte</b>	<b>SQ</b>	<b>gl</b>	<b>QN</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Regressão	2703,899	1,000	2703,899	35,846	0,000
Resíduo	9881,409	131,000	75,431		
Total	12585,308	132,000			
<b>Variáveis independentes</b>	<b>Coefficiente de regressão</b>		<b>b-padronizados</b>	<b>t</b>	<b>P</b>
	<b>b</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>Beta</b>		
Intercepto	61,315	2,708		22,644	0,000
Idade (anos)	0,446	0,074	0,464	5,987	0,000

Preditores: Intercepto, Idade.

## ANEXO H

Modelo final de regressão da Pressão arterial média sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,994	0,988	0,988	1,186	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	22644,099	3,000	7548,033	5370,007	0,000
Resíduo	275,496	196,000	1,406		
Total	22919,595	199,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	-0,639	0,746		-0,856	0,393
PAD (mmHg)	0,687	0,014	0,621	49,238	0,000
PAS (mmHg)	0,326	0,009	0,432	34,660	0,000
Idade (anos)	-0,001	0,009	-0,001	-0,134	0,893

Preditores: Constante, pressão arterial média (PAD), pressão arterial diastólica (PAS), Idade.

Modelo final de regressão múltipla da Pressão arterial média sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,523	0,273	0,262	9,514	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	4420,518	2,000	2210,259	24,418	0,000
Resíduo	11767,045	130,00	90,515		
Total	16187,563	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	69,958	3,307		21,156	0,000
Idade (anos)	0,539	0,082	0,494	6,585	0,000
rs1137101 (LEPR)	5,043	1,803	0,210	2,797	0,006

Preditores: Intercepto, Idade, rs1137101 (LEPR).

## ANEXO I

Modelo final de regressão de triglicérides nas variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,972	0,944	0,943	13,54	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	603210,703	4,000	150802,676	822,517	0,000
Resíduo	35751,892	195	183,343		
Total	638962,595	199			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b- padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	7,072	5,903		1,198	0,232
Colest-T (mg/dL)	4,611	0,092	3,309	50,304	0,000
HDL-col (mg/dL)	-4,534	0,101	-2,901	-44,882	0,000
LDL-col (mg/dL)	-4,764	0,096	-1,205	-49,572	0,000
Idade (anos)	0,048	0,099	0,009	0,490	0,624

Preditores: Intercepto, colesterol total, colesterol HDL (HDL-col), colesterol LDL (LDL-col), Idade.

Modelo final de regressão múltipla dos triglicérides sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,263	0,069	0,062	59,715	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	34637,109	1,000	34637,109	9,713	0,002
Resíduo	467134,861	131,000	3565,915		
Total	501771,970	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	51,565	18,618		2,770	0,006
Idade (anos)	1,596	0,512	0,263	3,117	0,002

Preditores: Intercepto, Idade.

## ANEXO J

Modelo final de regressão colesterol total sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão			
	0,998	0,995	0,995	2,829			
Fonte	SQ	gl	QN	F	P		
Regressão	327497,118	4,000	81874,279	10227,058	0,000		
Resíduo	1561,102	195,000	8,006				
Total	329058,220	199,000					
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b- padronizados		t	P	
	b	Erro Padrão	Beta				
Intercepto	0,058	1,238			0,047	0,963	
LDL-col (mg/dL)	0,989	0,006	0,881			165,112	0,000
HDL-col (mg/dL)	1,013	0,015	0,357			67,417	0,000
Triglicerídeos (mg/dL)	0,201	0,004	0,281			50,304	0,000
Idade (anos)	0,001	0,021	0,000			0,066	0,948

Preditores: Constante, colesterol LDL (LDL-col), colesterol HDL (HDL-col), triglicerídeos, Idade.

Modelo final de regressão múltipla do Colesterol total sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão			
	0,344	0,118	0,105	39,485			
Fonte	SQ	gl	QN	F	P		
Regressão	27243,338	2,000	13621,669	8,737	0,000		
Resíduo	202679,339	130,000	1559,072				
Total	229922,677	132,000					
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados		t	P	
	b	Erro Padrão	Beta				
Intercepto	165,762	13,439			12,334	0,000	
Idade (anos)	1,066	0,339	0,259			3,143	0,002
rs17817449 ( <i>FTO</i> )	-19,052	7,284	-0,216			-2,616	0,010

Preditores: Intercepto, Idade, rs17817449 (*FTO*).

## ANEXO K

Modelo final de regressão do Colesterol HDL sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,982	0,964	0,964	2,736	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	39409,516	4,000	9852,379	1316,347	0,000
Resíduo	1459,504	195,000	7,485		
Total	40869,020	199,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b- padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	2,421	1,184		2,044	0,042
Coolest-T (mg/dL)	0,947	0,014	2,687	67,417	0,000
LDL-col (mg/dL)	-0,936	0,015	-2,368	-62,279	0,000
Triglicédeos (mg/dL)	-0,194	0,004	-0,769	-49,572	0,000
Idade (anos)	0,001	0,020	0,001	0,045	0,964

Preditores: Constante, colesterol total (Coolest-T) , colesterol LDL (LDL-col), triglicédeos, Idade.

Modelo final de regressão múltipla do colesterol HDL sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,087	0,008	0,000	14,962	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	225,042	1,000	225,042	1,005	0,318
Resíduo	29325,259	131,000	223,857		
Total	29550,301	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	57,305	4,665		12,285	0,000
Idade (anos)	-0,129	0,128	-0,087	-1,003	0,318

Preditores: Intercepto, Idade.

## ANEXO L

Modelo final de regressão de Colesterol LDL nas variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,997	0,994	0,994	2,851	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	259965,661	4,000	64991,415	7993,099	0,000
Resíduo	1585,534	195,000	8,131		
Total	261551,195	199,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b- padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	0,429	1,247		0,344	0,731
Colest-T (mg/dL)	1,004	0,006	1,126	165,112	0,000
HDL-col (mg/dL)	-1,017	0,016	-0,402	-62,279	0,000
Triglicérideos (mg/dL)	-0,201	0,004	-0,314	-44,882	0,000
Idade (anos)	0,005	0,021	0,001	0,228	0,820

Preditores: Constante, colesterol total (Colest-T) , colesterol HDL (HDL-col), triglicérideos, Idade.

Modelo final de regressão múltipla do colesterol LDL sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,321	0,103	0,089	35,570	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	18854,956	2,000	9427,478	7,451	0,001
Resíduo	164481,119	130,000	1265,239		
Total	183336,075	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	95,558	12,107		7,893	0,000
Idade (anos)	0,896	0,305	0,244	2,934	0,004
17817449 ( <i>FTO</i> )	-15,602	6,562	-0,198	-2,378	0,019

Preditores: Intercepto, Idade, 17817449 (*FTO*).

## ANEXO M

Modelo final de regressão da Leptina sobre as variáveis Antropométricas, pressóricas e bioquímicas

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,694	0,482	0,471	11,394	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	23532,841	4,000	5883,210	45,315	0,000
Resíduo	25316,895	195,000	129,830		
Total	48849,736	199,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b- padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	-21,319	9,539		-2,235	0,027
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	1,576	0,120	0,782	13,115	0,000
HDL-col (mg/dL)	0,252	0,064	0,230	3,942	0,000
RCQ	-29,491	9,906	-0,197	-2,977	0,003
Idade (anos)	0,074	0,086	0,048	0,852	0,396

Preditores: Constante, Índice de massa corporal (IMC), colesterol HDL (HDL-col), razão cintura/quadril (RCQ), idade.

Modelo final de regressão múltipla da Leptina sobre os polimorfismos

	R	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Erro Padrão	
	0,202	0,041	0,026	15,982	
Fonte	SQ	gl	QN	F	P
Regressão	1407,732	2,000	703,866	2,756	0,067
Resíduo	33204,973	130,000	255,423		
Total	34612,705	132,000			
Variáveis independentes	Coeficiente de regressão		b-padronizados	t	P
	b	Erro Padrão	Beta		
Intercepto	12,162	4,984		2,440	0,016
Idade (anos)	0,131	0,138	0,082	0,949	0,345
rs1801282 (PPARG)	10,751	5,286	0,176	2,034	0,044

Preditores: Intercepto, Idade, rs1801282 (PPARG).