CLARISSA TAMIE HIWATASHI FUJIWARA

**Efeito dos polimorfismos nos genes da leptina e do
receptor da leptina sobre a compulsão alimentar
em crianças e adolescentes obesos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Endocrinologia

Orientador: Dr. Marcio Corrêa Mancini

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.

A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Fujiwara, Clarissa Tamie Hiwatashi

Efeitos dos polimorfismos nos genes da leptina e do receptor da leptina sobre a compulsão alimentar em crianças e adolescentes obesos / Clarissa Tamie Hiwatashi Fujiwara. -- São Paulo, 2014.

Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Endocrinologia.

Orientador: Marcio Corrêa Mancini.

Descritores: 1.Obesidade pediátrica/genética 2.Transtorno da compulsão alimentar/genética 3.Polimorfismo de nucleotídeo único 4.Leptina 5.Receptores para leptina/genética 6.Obesidade/metabolismo 7.Criança 8.Adolescente

USP/FM/DBD-156/14

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaios (LIM-18) da Disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e com apoio FAPESP (Processos nº 2011/23340-6 e 2011/05322).

DEDICATÓRIA

Àqueles cuja dedicação e amor incondicionais
proporcionaram os valores e os ensinamentos para que
minhas realizações e conquistas fossem alcançadas e por
ser minha inspiração de vida: meus amados pais.

AGRADECIMENTOS

Ao longo da trajetória para a realização deste trabalho, tive a oportunidade ímpar de contar com o apoio e trabalhar ao lado de pessoas fantásticas e inspiradoras que permitiram a sua concretização. Gostaria de expressar a minha sincera gratidão e registrar meus agradecimentos àqueles que, durante a caminhada, contribuíram para a chegada deste momento:

Primeiramente, gostaria de expressar o meu profundo agradecimento ao Dr. Marcio Corrêa Mancini, pela inestimável oportunidade em realizar este trabalho sob sua orientação. Agradeço pela inspiração e por ter despertado em mim o fascínio pela área acadêmica. Trata-se de uma honra ter trabalhado ao seu lado desde a Iniciação Científica. Agradecerei eternamente por todos os seus ensinamentos que propiciaram conquistas que, definitivamente, contribuíram à minha formação;

À Dra. Maria Edna de Melo, é inexprimível a gratidão que tenho por todo o aprendizado adquirido desde o início da minha jornada na área acadêmica. Muito obrigada pela generosidade em partilhar de sua sabedoria. Pessoa que me inspira profunda admiração, agradeço pela primordial contribuição ao meu crescimento profissional e pessoal;

À Ariana Fernandes, Mara Mendes, Marina Pioltine e Nídia Horie, gostaria de expressar o meu agradecimento pela valiosa amizade e por todo o carinho recebido. Agradeço por poder compartilhar com vocês os momentos alegres e importantes desta trajetória. São pessoas a quem estimo toda a felicidade e desejo uma amizade que perdure muito além da pós-graduação;

À Aritânia Santos, a quem agradeço imensamente pelos preciosos ensinamentos, por todas as palavras de incentivo e pela acurácia e precisão técnica que possibilitou a execução deste trabalho visando o seu melhor;

Ao Dr. Alfredo Halpern, agradeço pela oportunidade e o privilégio em trabalhar, desde a Iniciação Científica, junto a tão prestigioso grupo de pesquisa e à Dra. Cintia Cercato pelos primorosos ensinamentos e sugestões que ampararam o desenvolvimento deste trabalho;

A todos os pesquisadores, pós-graduandos e colaboradores do LIM-18, agradeço pelo profissionalismo e competência, sem os quais a realização deste trabalho

seria infactível. Gostaria de agradecer em especial à Rosa Fukui, Greci Paula, Maria de Fátima Sanches e Rodolfo Batista, pela disposição e colaboração sempre que necessários;

Ao Prof. Dr. Sergio Russo Matioli, agradeço por dispor de seu valioso conhecimento no domínio da análise dos dados e pelo suporte no desenvolvimento deste trabalho;

Aos membros que fizeram e fazem parte da Liga Acadêmica de Obesidade Infantil, pelo aprendizado proporcionado e pela inestimável experiência para o meu desenvolvimento. Agradeço à Alessandra Xavier pelo suporte e incentivo e à Priscila Barbosa pelos momentos compartilhados desde os meus tempos de graduação;

Um agradecimento em especial às acadêmicas (e praticamente colegas de profissão): Caroline Gutierrez, Denise Roberto, Fernanda Quinta, Juliana de Oliveira, Izabel Alves, Mariana Prudencio e Marina Zauli por toda a dedicação aos pacientes e suporte às nossas atividades. A vocês estimo todo o sucesso e agradeço pela valiosa disposição e responsabilidade;

À Eliana Vergílio, agradeço pela sua energia e sorriso contagiantes nos momentos de descontração – que não se mostraram poucos – desde o início de minhas pesquisas no ambulatório de Endocrinologia. À Marilda Diniz, agradeço pelo apoio ao desenvolvimento do projeto e à Roseli Zamboni pelo suporte e organização.

À toda equipe de Enfermagem e aos colaboradores do ambulatório de Endocrinologia, sempre prestativos, agradeço pela disposição e colaboração;

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação em Endocrinologia, agradeço por toda assistência sempre que foi necessária, em especial à Cida e à Claudinha;

Às amigas da Faculdade de Saúde Pública que carrego juntamente desde a graduação, muito obrigada pelo carinho, por partilhar de momentos alegres e pelas nossas “agregações”;

À Dra. Márcia Aparecida de Faria Pádua, meu imensurável agradecimento pela inspiração, valoroso incentivo e apoio que me propiciou singular experiência e aprendizado;

A todos os amigos que, de alguma forma, acompanharam-me em momentos ao longo desta jornada, prescindindo de seu precioso tempo compartilhando assim sua energia positiva;

Aos meus avós, Aiko e Tsutomu Fujiwara, Hatsu e Tsumotu Hiwatashi (*in memoriam*), agradeço por todos os valores transmitidos, pela sabedoria e pelos ensinamentos. São minhas raízes familiares e alicerces que serão sempre lembrados independentemente da distância geográfica;

Aos meus irmãos, muito obrigada pela possibilidade em compartilhar tantos momentos inesquecíveis e pela presença em minhas melhores recordações. Agradeço pelo cuidado, amor e apoio incondicionais;

Aos meus pais, palavras não permitem exprimir a magnitude do amor e a gratidão que sinto por vocês. Agradeço por serem minha melhor referência para a formação de caráter e por sempre estimularem o meu aprendizado e crescimento. Muito obrigada pelo amor incondicional e por fazerem parte dos momentos mais importantes da minha vida;

A todos participantes deste estudo, expresso o meu profundo agradecimento pela disponibilidade e colaboração;

A todos àqueles que, direta ou indiretamente, estiveram presentes ao longo desta trajetória, o meu muito obrigado;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), agradeço pelo apoio financeiro que tornou esta pesquisa exequível;

Por fim, porém não em último lugar, agradeço à Universidade de São Paulo. A segunda casa que considero desde a graduação, agradeço à Instituição que me proporcionou oportunidade única de formação e aprendizado.

EPÍGRAFE

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

LEONARDO DA VINCI

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado *de International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1. Panorama da obesidade	2
1.2. Compulsão alimentar periódica	3
1.2.1 Obesidade e a compulsão alimentar periódica.....	5
1.3. Leptina	5
1.3.1. Regulação central do apetite e gasto energético	6
1.3.2. Vias de sinalização do receptor da leptina	8
1.3.3. Leptina como modulador de inflamação e componentes da síndrome metabólica	10
1.4. Leptina e transtornos alimentares	11
1.5. Fatores genéticos e transtornos alimentares	11
1.6. Polimorfismo no gene da leptina	13
1.6.1. rs7799039 (G-2548A)	13
1.7. Polimorfismos no gene do receptor da leptina.....	14
1.7.1. rs1137100 (Lys109Arg).....	15
1.7.2. rs1137101 (Gln223Arg).....	15
1.7.3. rs8179183 (Lys656Asn).....	16
1.8. Justificativa do estudo	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. Objetivo geral.....	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. MÉTODOS.....	20
3.1. Considerações éticas	20
3.2. Casuística	20
3.2.1. Grupo de crianças e adolescentes obesos.....	20
3.2.2. Grupo controle	21
3.2.3. Composição dos grupos	21
3.3. Avaliação antropométrica, clínica e metabólica	22
3.3.1. Parâmetros antropométricos e clínicos	22
3.3.2. Parâmetros metabólicos	24
3.4. Avaliação da compulsão alimentar periódica	26

3.5. Estudo molecular	27
3.5.1. Extração do DNA genômico	27
3.5.2. Genotipagem dos polimorfismos	28
3.6. Análise estatística.....	30
4. RESULTADOS.....	33
4.1. Características da população	33
4.1.1. Grupo de crianças e adolescentes obesos.....	33
4.1.2. Grupo controle	36
4.1.3. Classificação da compulsão alimentar periódica	36
4.2. Comparação entre o gênero no grupo de crianças e adolescentes obesos ...	37
4.2.1. Comparação entre os grupos de compulsão alimentar periódica quanto ao gênero	39
4.2.2. Avaliação da compulsão alimentar periódica quanto aos fatores de risco cardiometabólicos	42
4.3. Avaliação dos polimorfismos no grupo de crianças e adolescentes obesos.	43
4.3.1. Frequência dos polimorfismos nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i>	43
4.3.2. Avaliação dos polimorfismos quanto à compulsão alimentar periódica	44
4.4. Estudo dos polimorfismos quanto aos fatores de risco cardiometabólicos e variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas.....	45
4.4.1. Avaliação do rs7799039 no gene <i>LEP</i>	45
4.4.2. Avaliação do rs1137100 no gene <i>LEPR</i>	50
4.4.3. Avaliação do rs1137101 no gene <i>LEPR</i>	53
4.4.4. Avaliação do rs8179183 no gene <i>LEPR</i>	56
4.5. Análise do desequilíbrio de ligação	60
4.5.1. Frequência estimada dos diplótipos no gene <i>LEPR</i>	61
4.5.2. Avaliação dos diplótipos no gene <i>LEPR</i> em crianças e adolescentes obesos	63
4.6. Avaliação dos polimorfismos quanto à obesidade.....	66
5. DISCUSSÃO	69
5.1. Compulsão alimentar periódica	71
5.2. Polimorfismos nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i> e fatores cardiometabólicos	76
6. CONCLUSÃO	90
7. ANEXOS	92
8. REFERÊNCIAS	100

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
AgRP	Proteína relacionada ao Agouti
ALT	Alanina aminotransferase
AN	Anorexia nervosa
APA	<i>American Psychiatric Association</i>
AST	Aspartato aminotransferase
ATV	Área tegmental ventral
BN	Bulimia nervosa
C	Citosina
CAP	Compulsão alimentar periódica
CART	Transcrito regulado pela cocaína e anfetamina
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CT	Colesterol total
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DSM	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>
ECAP	Escala de compulsão alimentar periódica
FC	Frequência cardíaca
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
G	Guanina
GABA	Ácido gama-aminobutírico
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment of insulin resistance</i>
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corporal

LDL	Lipoproteína de baixa densidade
<i>LEP</i>	Gene da leptina
<i>LEPR</i>	Gene do receptor da leptina
MC4R	Receptor de melanocortina tipo 4
MG	Massa gorda
mRNA	RNA mensageiro
NARC	Núcleo arqueado
NPBL	Núcleo parabraquial lateral
NPV	Núcleo paraventricular
NPY	Neuropeptídeo Y
ObR	Receptor da leptina
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	Razão de chances (<i>Odds ratio</i>)
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Reação em cadeia da polimerase (<i>Polymerase chain reaction</i>)
POMC	Pró-opiomelanocortina
RCE	Relação cintura-estatura
RCM	Risco cardiometabólico
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único (<i>Single nucleotide polymorphism</i>)
T	Timina
TA	Transtorno alimentar
TCAP	Transtorno da compulsão alimentar periódica
TG	Triglicérides
Z-IMC	Escore Z do índice de massa corporal
α -MSH	Hormônio α -estimulante de melanócitos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Mecanismo de ativação sistema JAK/STAT pela isoforma longa do ObR	9
Figura 1.2 - Estrutura do gene <i>LEP</i>	13
Figura 1.3 - Estrutura do gene <i>LEPR</i>	14
Figura 3.1 - Organograma representativo da amostra final de crianças e adolescentes no grupo com obesidade e no grupo controle (eutrófico)	22
Figura 3.2 - Discriminação alélica visualizada por meio do sinal de fluorescência TaqMan® para o rs7799039 no gene <i>LEP</i>	29
Figura 4.1 - Frequência de classificação dos fatores de RCM.....	35
Figura 4.2 - Frequência de classificação da CAP no grupo de crianças e adolescentes obesos e controle	37
Figura 4.3 - Comparação da média de leptina e leptina ajustada entre os genótipos do rs7799039 em meninas pré-púberes.....	46
Figura 4.4 - Desequilíbrio de ligação entre os SNPs no gene <i>LEPR</i> no grupo de crianças e adolescentes obesos.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Critérios diagnósticos para o transtorno de compulsão alimentar periódica (TCAP).....	4
Tabela 1.2 - Estudos de mutações genéticas relacionadas à CAP e obesidade.....	12
Tabela 3.1 - Identificação dos polimorfismos nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i> e respectivos ensaios TaqMan®	28
Tabela 4.1 - Características antropométricas, clínicas e metabólicas do grupo de crianças e adolescentes obesos.....	34
Tabela 4.2 - Características antropométricas e clínicas do grupo controle.....	36
Tabela 4.3 - Características antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao gênero do grupo de crianças e adolescentes obesos.....	38
Tabela 4.4 - Comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas entre os grupos de CAP no gênero feminino	40
Tabela 4.5 - Comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas entre os grupos de CAP no gênero masculino	41
Tabela 4.6 - Frequência da CAP quanto aos fatores de risco cardiometabólicos	42
Tabela 4.7 - Frequências dos polimorfismos nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i>	43
Tabela 4.8 - Frequências dos polimorfismos entre os grupos de compulsão alimentar periódica.....	44
Tabela 4.9 - Frequência do rs7799039 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos	45
Tabela 4.10 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs7799039 no gênero feminino.....	47
Tabela 4.11 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs7799039 no gênero masculino	49
Tabela 4.12 - Frequência do rs1137100 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos	50
Tabela 4.13 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137100 no gênero feminino.....	51
Tabela 4.14 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137100 no gênero masculino.....	52
Tabela 4.15 - Frequência do rs1137101 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos	53
Tabela 4.16 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137101 no gênero feminino.....	54
Tabela 4.17 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137101 no gênero masculino.....	55

Tabela 4.18 - Frequência do rs8179183 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos	56
Tabela 4.19 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs8179183 no gênero feminino	57
Tabela 4.20 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs8179183 no gênero masculino.....	59
Tabela 4.21 - Análise do desequilíbrio de ligação nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i>	60
Tabela 4.22 - Identificação e frequência dos diplótipos no gene <i>LEPR</i>	62
Tabela 4.23 - Frequências dos diplótipos no gene <i>LEPR</i> quanto à compulsão alimentar periódica	63
Tabela 4.24 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto aos diplótipos no gene <i>LEPR</i>	65
Tabela 4.25 - Frequências dos polimorfismos nos genes <i>LEP</i> e <i>LEPR</i> quanto à obesidade.....	66
Tabela 4.26 - Frequências dos diplótipos no gene <i>LEPR</i> quanto à obesidade.....	67

RESUMO

Fujiwara CTH. *Efeito dos polimorfismos nos genes da leptina e do receptor da leptina sobre a compulsão alimentar em crianças e adolescentes obesos* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

INTRODUÇÃO: A obesidade na infância e adolescência representa uma epidemia global e figura como um problema de saúde pública proeminente de prevalência crescente. A obesidade frequentemente está associada à compulsão alimentar periódica (CAP) e componentes genéticos participam de sua etiologia multifatorial. Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene da leptina (*LEP*) e do receptor da leptina (*LEPR*) podem modificar a expressão da leptina e de suas vias de sinalização e, conseqüentemente, alterar a regulação do apetite e da saciedade, contribuindo assim para a etiopatogenia e manutenção da CAP. O objetivo deste trabalho foi investigar a influência dos polimorfismos rs7799039 (G>A) no gene *LEP* e rs1137100 (A>G), rs1137101 (A>G) e rs8179183 (G>C) no gene *LEPR* sobre a CAP em crianças e adolescentes obesos, além de caracterizar a população quanto à CAP e verificar a associação dos SNPs com o risco cardiometabólico (RCM) e a obesidade. **MÉTODOS:** Estudo transversal que incluiu 465 crianças e adolescentes obesos com idade entre 7 e 19 anos avaliados quanto a variáveis antropométricas e metabólicas. Os fatores de RCM consistiram de hipertensão arterial sistêmica, glicemia de jejum alterada, HDL-colesterol baixo e hipertrigliceridemia. A CAP foi avaliada por meio da Escala de Compulsão Alimentar Periódica (ECAP). Para investigar o efeito dos SNPs no risco para a obesidade foi incluído um grupo controle composto por 135 crianças e adolescentes eutróficos. A genotipagem foi realizada por PCR em tempo real e para análise dos SNPs, adotou-se o modelo dominante. Foi calculado o desequilíbrio de ligação entre os SNPs e estimada as frequências dos haplótipos. As comparações entre os grupos foram realizadas estratificadamente por gênero e estágio puberal. Para avaliar a magnitude do risco dos SNPs sobre a CAP e a obesidade foi realizada regressão logística ajustada para variáveis de confusão (idade, Z-IMC e estágio puberal). **RESULTADOS:** As crianças e adolescentes obesos (12,5 ± 2,9 anos; 52,7% meninas) classificados com CAP apresentaram maior adiposidade e a frequência da CAP foi mais elevada no gênero feminino (OR= 2,146; IC 95% 1,461–3,152; p <0,001). A frequência do alelo A do rs7799039 foi mais elevada no grupo de obesos (OR= 1,530; IC 95% 1,022–2,292; p= 0,039) e o alelo associou-se ao maior nível de leptina e colesterol total em meninas e à maior glicemia em meninos (p <0,05). No rs1137100 e o rs1137101, a presença do alelo G em meninas conferiu risco para a hipertrigliceridemia (OR= 1,926; IC 95% 1,010–3,673; p= 0,047 e OR= 2,039; IC 95% 1,057–3,931; p= 0,033, respectivamente). O alelo C do rs8179183 relacionou-se, em meninas, à relação cintura-estatura e glicemia mais elevadas e, em meninos, ao maior percentil de pressão arterial diastólica, glicemia, colesterol total e LDL-colesterol (p <0,05). **CONCLUSÃO:** Os polimorfismos não foram associados à compulsão alimentar periódica. A CAP foi relacionada ao pior grau de adiposidade e o maior risco foi observado no gênero feminino. O SNP rs7799039 no gene *LEP* conferiu risco para obesidade, enquanto o rs1137100, rs1137101 e rs8179183 no gene *LEPR* relacionaram-se ao pior perfil cardiometabólico em crianças e adolescentes obesos.

Descritores: Obesidade pediátrica/genética; Transtorno da compulsão alimentar/genética; Polimorfismo de nucleotídeo único; Leptina; Receptores para leptina/genética; Obesidade/metabolismo; Criança; Adolescente.

SUMMARY

Fujiwara CTH. *Effect of polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes on binge eating in obese children and adolescents* [Dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2014.

INTRODUCTION: Obesity during childhood and adolescence represents a global epidemic and consists in a prominent public health issue of increasing prevalence. Obesity is frequently associated with binge eating (BE) and genetic factors participate of its multifactorial etiology. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the leptin (*LEP*) and leptin receptor (*LEPR*) genes may modify the leptin expression and its signaling pathways and, consequently, alter appetite and satiety regulation, thus contributing to the etiopathogeny and maintenance of BE. The aim of this study was to investigate the influence of polymorphisms rs7799039 (G>A) in the *LEP* gene and rs1137100 (A>G), rs1137101 (A>G) and rs8179183 (G>C) in the *LEPR* gene on BE in obese children and adolescents, besides characterize the population regarding to BE and examine the association of SNPs with cardiometabolic risk (CMR) and obesity. **METHODS:** Cross-sectional study in which 465 obese children and adolescents aged from 7 to 19 years were enrolled and had anthropometric and metabolic variables assessed. The CMR factors consisted of systemic hypertension, impaired fasting glucose, low HDL-cholesterol levels and hypertriglyceridemia. The BE was evaluated through the Binge Eating Scale (BES). To investigate the effect of SNPs on obesity risk, a control group of 135 eutrophic children and adolescents was enrolled. Genotyping was performed by real-time PCR and for the SNPs analysis, the dominant model was adopted. The linkage disequilibrium between SNPs was calculated and the haplotype frequencies were estimated. Comparisons between groups were performed stratified by gender and pubertal stage. To assess the risk magnitude for the SNPs on BE and obesity, logistic regression adjusted for confounding variables (age, Z-BMI and pubertal stage) was performed. **RESULTS:** Obese children and adolescents (12.5 ± 2.9 years, 52.7% girls) classified with BE showed greater adiposity and BE frequency was higher among females (OR= 2.146; 95% CI 1.461–3.152; p <0.001). The observed frequency of A allele of rs7799039 was a higher in the obese group (OR= 1.530; 95% CI 1.022–2.292; p= 0.039) and the allele was associated with higher leptin and total cholesterol levels in girls and higher glucose levels in boys (p <0.05). For the rs1137100 and rs1137101, the presence of the G allele among girls, conferred risk for hypertriglyceridemia (OR= 1.926; 95% CI 1.010–3.673; p= 0.047 and OR= 2.039; 95% CI 1.057–3.931; p= 0.033, respectively). The C allele of rs8179183 was associated, among girls, with a higher waist-to-height ratio and glucose levels and, among boys, with greater diastolic blood pressure percentile, glucose, total cholesterol and LDL-cholesterol levels (p <0.05). **CONCLUSION:** Polymorphisms were not associated with binge eating. BE was related with a more severe adiposity and an increased risk was observed among females. The SNP rs7799039 in the *LEP* gene contributed to the risk of obesity, whereas the rs1137100, rs1137101 and rs8179183 in *LEPR* gene were related to a worse cardiometabolic profile in obese children and adolescents.

Descriptors: Pediatric obesity/genetics; Binge-eating disorder/genetics; Polymorphism, single nucleotide; Leptin; Receptors, leptin/genetics; Obesity/metabolism; Child; Adolescent.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Panorama da obesidade

A obesidade é uma doença crônica, de prevalência crescente, representando um importante problema de saúde pública e uma epidemia global segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (1). Conceituada como a condição de acúmulo anormal ou excessivo de gordura no organismo, pode acarretar prejuízos à saúde do indivíduo e trata-se de uma doença de etiologia multifatorial resultante da interação entre fatores genéticos, biológicos, ambientais e comportamentais que estão estritamente relacionados à regulação do balanço energético e do controle do peso corporal (2).

No Brasil, observou-se nas últimas três décadas o aumento expressivo na prevalência da obesidade em todos os estratos populacionais de idade e renda. Segundo dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), aproximadamente 49,0% da população adulta apresenta excesso de peso e 14,9% destes indivíduos são classificados com obesidade. Entre as crianças, estima-se que a prevalência do excesso de peso seja de 33,5% e de 20,5% em adolescentes (3).

Jovens com excesso de peso possuem risco mais elevado de permanecerem nesta condição quando adultos, sobretudo naqueles com obesidade mais grave (4) ou com ao menos um dos pais obesos (5). A obesidade na infância e adolescência, predispõe o indivíduo ao maior risco para o desenvolvimento de alterações metabólicas como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), decorrente da hiperinsulinemia e intolerância à glicose (6), associado a dislipidemias e à hipertensão arterial sistêmica (HAS), fatores que estão diretamente relacionados a doenças cardiovasculares (7). A obesidade na infância está associada a condições de saúde outrora menos frequentes, como asma (8), apnéia do sono (9) e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (7). Paralelamente, o tempo de duração da obesidade está diretamente correlacionado à morbimortalidade por essas doenças e, consequentemente, quanto mais precoce a obesidade, maior a chance do indivíduo apresentar alterações

metabólicas e cardiovasculares na idade adulta (10). Estima-se que o incremento em cerca de 20% no peso corporal, por exemplo, seja capaz de elevar significativamente o risco de aparecimento das doenças crônicas de maior prevalência associadas ao excesso de peso (11).

1.2. Compulsão alimentar periódica

A obesidade apresenta associação com sintomas psicopatológicos, especialmente depressão, ansiedade e comportamentos obsessivos, assim como cursa com alterações no comportamento alimentar (7, 12). Os transtornos alimentares (TAs) são quadros psiquiátricos caracterizados por alterações do comportamento alimentar que levam ao desenvolvimento de problemas físicos, psíquicos, bem como estresse emocional e social (13). No estudo da obesidade e TAs, especificamente, destaca-se o transtorno da compulsão alimentar periódica (TCAP).

O TCAP teve, em parte, origem nos critérios diagnósticos presentes na bulimia nervosa (BN) e, dentre outras razões, foi criado para diferenciar indivíduos obesos com compulsão alimentar daqueles que não apresentavam este padrão de comportamento. As características centrais do TCAP estão fundamentadas na ingestão de uma quantidade exagerada de alimento num período delimitado de tempo, na ausência de comportamentos compensatórios direcionados para a eliminação do excesso alimentar e o episódio de compulsão alimentar periódica (CAP) é acompanhado da sensação de falta de controle sobre o ato de comer (13).

Atualmente, o diagnóstico do TCAP figura no *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V* (DSM-V) como categoria oficial diagnóstica. Ressalta-se que na definição de um episódio de compulsão alimentar periódica, o tempo de duração do mesmo deve ser delimitado em, por exemplo, até duas horas. No entanto, o fato de indivíduos com TCAP apresentarem dificuldades para circunscrever um episódio – parte disso ocorre em virtude de não haver engajamento em métodos compensatórios subsequentes, como ocorre na BN – torna-se difícil delimitar o final de um episódio e estimar a quantidade de episódios apresentados num dia pelo paciente. Dessa forma, considera-se para o diagnóstico do TCAP, a frequência dos episódios de CAP semanais. O detalhamento dos critérios presentes no DSM-V para o diagnóstico do TCAP é apresentado na Tabela 1.1 (13).

Tabela 1.1 - Critérios diagnósticos para o transtorno de compulsão alimentar periódica (TCAP)

A. Episódios recorrentes de compulsão alimentar periódica. Um episódio é caracterizado pelos seguintes aspectos:

- (1) Ingestão, num período limitado de tempo (ex. dentro de um período de 2 horas), de uma quantidade de alimento definitivamente maior do que a maioria das pessoas consumiria em um período similar, sob circunstâncias similares;
- (2) Um sentimento de falta de controle sobre o comportamento alimentar durante o episódio (ex. sentimento de não conseguir parar ou controlar o que ou o quanto se está comendo).

B. Os episódios de compulsão alimentar periódica estão associados a três (ou mais) dos seguintes critérios:

- (1) Comer muito e mais rapidamente do que o normal;
- (2) Comer até sentir-se incomodamente repleto;
- (3) Comer grandes quantidades de alimentos, quando não fisicamente faminto;
- (4) Comer sozinho, em razão do embaraço pela quantidade de alimentos que se consome;
- (5) Sentir repulsa por si próprio, depressão ou demasiada culpa após comer excessivamente.

C. Acentuada angústia relativa à compulsão alimentar periódica.

D. A compulsão alimentar periódica ocorre ao menos, 1 vez por semana, durante 3 meses.

E. A compulsão alimentar periódica não está associada à prática regular de comportamentos compensatórios inadequados (ex. purgação, jejum, exercício físico excessivo) e não ocorre exclusivamente durante o curso de anorexia nervosa ou bulimia nervosa.

FONTE: Adaptado de *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V* - APA, 2013.

1.2.1 Obesidade e a compulsão alimentar periódica

Indivíduos obesos que referem episódios de CAP recorrentemente apresentam o início do quadro de obesidade mais precoce, sofrem de maior flutuação de peso e dispendem mais tempo em tentativas de emagrecimento em comparação a obesos sem esse comportamento alimentar (14, 15, 16). O TCAP mostra-se relacionado a prejuízos na função ocupacional (14), cursando amiúde com outro transtorno psiquiátrico (17, 18).

Estudos epidemiológicos estimam que a prevalência do TCAP seja de aproximadamente 3 a 5% na população geral, elevando-se para índices de 7,5 a 30% em estudos clínicos com obesos em busca de tratamento para o excesso de peso (14, 16, 19, 20, 21, 22). Assim como documentado em outros TAs, a ocorrência do TCAP é mais frequentemente observada no gênero feminino, embora afete em menor proporção indivíduos do gênero masculino (23, 24).

Wolfe *et al.* (2009) descrevem que a percepção da imagem corporal negativa, assim como os fortes impulsos para alimentar-se em excesso, denotam o comportamento alimentar paradoxal nestes indivíduos (25) e a associação entre a insatisfação com a imagem corporal confere incremento no risco de desenvolvimento de TAs em adolescentes (26). A obesidade na infância pode afetar negativamente a relação do indivíduo com o corpo, comprometendo a autoestima e a satisfação com a aparência, o que torna crianças e adolescentes obesos mais suscetíveis a práticas alimentares que contribuam para o surgimento de TAs (27).

1.3. Leptina

No sistema nervoso central (SNC), o balanço de energia é articulado por uma complexa rede de neuropeptídeos, integrando estímulos hormonais periféricos e determinando mudanças relacionadas à homeostase energética. Na década de 50, foi proposto que fatores circulantes gerados proporcionalmente à quantidade de gordura corporal influenciavam o consumo de alimentos e o gasto de energia de maneira a regular o peso (28). Diferentemente do que se supunha, o tecido adiposo não se restringe apenas como um local de armazenamento de triglicerídeos, porém apresenta eminente papel endócrino. Dentre diversas substâncias sintetizadas pelo adipócito, destaca-se a leptina, cujo nome deriva da palavra grega *leptos* – que significa magro –

e que foi primeiramente descrita ao final de 1994 pelo grupo de pesquisa de Jeffrey Friedman na Universidade de Rockefeller, através da técnica denominada *positional cloning*, em que genes mutantes são caracterizados com base no conhecimento da sua posição em um mapa genético, sendo posteriormente conduzidos estudos em modelos com o camundongo obeso *ob/ob*, deficiente para o gene da leptina (*LEP*) (29, 30).

A leptina é um peptídeo constituído por 167 aminoácidos, com peso molecular de aproximadamente 16 kDa e estrutura terciária com um conjunto de quatro hélices (30), pertencendo à classe I da família de citocinas (31). Apesar de predominantemente produzida pelo tecido adiposo branco, foram identificados outros locais de síntese da leptina que incluem o tecido adiposo marrom, epitélio gástrico, osteoblastos, epitélio mamário, placenta, fígado e coração, sugerindo que em determinados sítios a ação da leptina seja parácrina e não endócrina (32).

1.3.1. Regulação central do apetite e gasto energético

A ação da leptina ocorre a partir de sua produção e secreção na corrente sanguínea, onde circula ligada a proteínas para então ativar receptores específicos expressos central e periféricamente. A atividade mais notória e extensivamente estudada da leptina concerne à regulação central da ingestão alimentar e da homeostase energética na região do núcleo arqueado (NARC) hipotalâmico, no qual o RNA mensageiro (mRNA) do receptor da leptina (ObR) encontra-se abundantemente expresso (33). Não obstante, a leptina tem sido implicada na regulação e influência sobre diversos mecanismos biológicos, a exemplo da reprodução, resposta imune e inflamatória, hematopoiese, angiogênese e a formação óssea (34).

Em relação às ações centrais da leptina, é demonstrado que o NARC hipotalâmico apresenta ao menos duas subpopulações de neurônios sensíveis à ação da leptina: os neurônios anorexígenos da pró-opiomelanocortina (POMC) e os orexígenos da proteína relacionada ao Agouti (AgRP) (35). A atuação da leptina ocorre por meio do aumento da excitabilidade dos neurônios da POMC que estimulam a sua própria expressão e do transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART).

A POMC então é clivada proteoliticamente para gerar o hormônio α -estimulante de melanócitos (α -MSH), que ativa especialmente os receptores de melanocortina tipo 3 e 4 (MC3R e MC4R, respectivamente), expressos em neurônios

localizados no núcleo paraventricular (NPV) do hipotálamo, onde propaga sinais anorexígenos. Paralelamente, a leptina inibe a estimulação dos neurônios da AgRP, que expressam o neuropeptídeo Y (NPY), responsável pelo estímulo à ingestão alimentar. Em adição, a AgRP é um potente antagonista dos receptores de melanocortina, opondo-se, portanto, à atividade anorexígena da POMC (36). Outra ação da leptina concerne ao bloqueio na liberação pré-sináptica do neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA) pelos neurônios da AgRP. Isto reduz a inibição GABAérgica dos neurônios da POMC, aumentando sua excitabilidade neuronal, o que contribui para a elevação do gasto energético e redução da adiposidade (37).

Os neurônios de primeira ordem, AgRP e POMC inervam extensivamente neurônios de segunda ordem localizados no NPV, onde ocorre estimulação da leptina do sistema nervoso simpático, contribuindo para o aumento do gasto energético (38). Esta mesma região hipotalâmica apresenta células neuroendócrinas que secretam alguns fatores anorexígenos, como o hormônio liberador de tireotrofina (TRH) e o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), cujas secreções são estimuladas positivamente pela leptina. O α -MSH estimula a biossíntese de TRH e a inibição do NPY e da AgRP. Atribui-se ao TRH, o aumento da taxa metabólica e do gasto energético, por meio do estímulo no eixo hipófise-tireóide (39).

Adicionalmente, os neurônios da AgRP inervam o núcleo parabraquial lateral (NPBL), um centro de retransmissão do paladar e dos sinais de distensão gástrica gerados a partir do núcleo do trato solitário. Os neurônios da AgRP inibem os neurônios do NPBL liberando GABA. A leptina, entretanto, impede essa inibição, numa de suas ações relacionadas à regulação da ingestão alimentar (40).

O ObR também é expresso na área tegmental ventral (ATV) do cérebro, onde a leptina age especificamente sobre os neurônios dopaminérgicos. Foi demonstrado que a injeção de leptina diretamente nesta área reduz a ingestão alimentar, sugerindo o papel da leptina também sobre mecanismos de recompensa (41).

1.3.2. Vias de sinalização do receptor da leptina

O ObR possui estrutura similar aos receptores de citocinas da família de classe 1, sendo até o momento conhecida ao menos seis isoformas geradas por *splicing* alternativo e processamento pós-translacional. Estas isoformas diferenciam-se uma

das outras quanto ao domínio intracelular e são classificadas como longas, curtas ou solúveis dependendo do comprimento do domínio (42).

Acredita-se que as isoformas curtas – ObRa, ObRc, ObRd e ObRf – que contêm uma única região transmembrana, apresentem capacidade limitada de sinalização. Os ObRa e ObRc são consideravelmente expressos nos microvasos cerebrais que constituem a barreira hematoencefálica e, aventa-se que desempenhem funções no transporte de leptina ao SNC (43). É pressuposto que a isoforma solúvel ObRe, por ser truncada próxima à região transmembrana, atue como principal proteína circulante ligada à leptina no plasma, de maneira a modular as concentrações estáveis (“*steady state*”) da leptina, impedindo sua degradação e depuração.

A isoforma longa ObRb, consiste na isoforma preponderantemente encontrada no hipotálamo (44) sendo provavelmente responsável pelas ações centrais da leptina. O ObRb contém o domínio intracelular responsável por transmitir o sinal de ligação da leptina com o receptor para o interior da célula e, portanto, trata-se da única isoforma na qual a cascata das vias de transdução do sinal da leptina é ativada, o que ocorre por meio da ativação do sistema JAK2/STAT3 (*Janus kinase 2/Signal transducer and activator of transcription 3*), representado na Figura 1.1 (45, 46).

Figura 1.1 - Mecanismo de ativação do sistema JAK/STAT pela isoforma longa do ObR.

Quando a leptina se liga ao domínio extracelular do receptor ObRb (A), dois monômeros juntam-se formando um dímero. A cada um dos domínios intracelulares está associada uma JAK2 na forma inativa. Com a dimerização do receptor (B), duas JAKs são ativadas e fosforilam resíduos chave uma da outra. Após a ativação das JAKs, estas fosforilam as STATs e o próprio receptor. Duas proteínas STATs fosforiladas juntam-se formando dímeros (C) que migram para o núcleo, onde se ligam a locais específicos do DNA regulando a expressão gênica (D). ObRb - Isoforma longa do receptor da leptina; JAK2 - *Janus activated kinase 2*; STAT - *Signal transducer and activator of transcription*; P – Fósforo (modificado de Sousa *et al.*, 1998 e Frühbeck *et al.*, 2006).

1.3.3. Leptina como modulador de inflamação e componentes da síndrome metabólica

A leptina, sob condições fisiológicas, exerce ações bem estabelecidas no SNC direcionadas à regulação da homeostase energética. No entanto, estudos evidenciam que no estado de hiperleptinemia crônica, comumente observado em indivíduos obesos, níveis de leptina plasmática estão correlacionados a marcadores de inflamação e estresse oxidativo, associando-se também a componentes da síndrome metabólica, como a HAS e hiperlipidemia (47). Em parte, a leptina participa da homeostase da glicose via ações mediadas no SNC, especialmente, na região do NARC hipotalâmico, como demonstrado num estudo com camundongos, em que restauração da expressão do ObR em neurônios da POMC resultou em normalização da glicemia e níveis de glucagon, além de melhora da resistência hepática à ação da insulina (48).

A concentração elevada de leptina no plasma está associada ao aumento da pressão arterial e desenvolvimento da hipertensão em humanos (49,50), bem como à hiperatividade simpática e modulação da pressão arterial em camundongos (51). A ativação hipotalâmica do sistema de melanocortinas pela leptina desempenha um papel importante no aumento do tônus simpático renal e vasoconstrição periférica, elevando a pressão arterial (52).

A leptina modula diversos mediadores inflamatórios, contribuindo para o estado de inflamação subclínica observado na obesidade. A administração de leptina *in vitro*, mostrou potencializar a síntese de mediadores como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e de interleucinas (IL) pró-inflamatórias por macrófagos, denotando os efeitos causados pela hiperleptinemia sobre a inflamação (53). Adicionalmente, a ação prejudicada da leptina parece favorecer o acúmulo ectópico de triglicerídeos no pâncreas que, em última instância, pode induzir à disfunção de células β pancreáticas, aumentando o risco de desenvolvimento de DM2 (54).

1.4. Leptina e transtornos alimentares

Indivíduos obesos com TCAP apresentam concentração de leptina acima da esperada em relação a obesos sem o transtorno (55), sendo a correlação positiva entre a CAP e o nível de leptina descrita em adultos obesos (56, 57) e documentada em adolescentes (22).

Pressupõe-se que um possível mecanismo relacionado aos elevados níveis de leptina e a falta de saciedade, presente nos indivíduos obesos, seja decorrente da resistência à leptina. Esta condição, em que ocorre dessensibilização ao sinal da leptina e, conseqüentemente, o comprometimento nas ações desta citocina, podem possivelmente apresentar relação com a patogênese e manutenção da compulsão alimentar (55).

Em outros TAs, como na anorexia nervosa (AN) e na BN, a leptina parece desempenhar um papel importante no curso da sintomatologia. Em pacientes anoréxicos, as concentrações séricas e liquóricas da leptina estão diminuídas e, como esperado, se correlacionam com o peso, refletindo mais precisamente a quantidade de gordura corporal (58). Entretanto, na BN, caracterizada por episódios de compulsão alimentar seguidos de mecanismos compensatórios para eliminação do excesso alimentar ingerido, os pacientes apresentam nível de leptina reduzido que é observado mesmo após ajuste para a quantidade de massa gorda (59, 60) e a correlação inversa entre a frequência dos episódios de CAP e a leptinemia é descrita em mulheres com BN em comparação a controles saudáveis, sugerindo a influência da leptina no controle desses episódios (59).

A alteração da leptinemia documentada nos TAs poderia constituir-se como um dos possíveis fatores envolvidos na compulsão alimentar presente na BN e no TCAP, paralelamente à manutenção da restrição alimentar envolvida na AN, dificultando a adesão do paciente ao tratamento (61).

1.5. Fatores genéticos e transtornos alimentares

Os avanços na área da genética têm ampliado o número de estudos com grandes populações, envolvendo mapeamentos genéticos, permitem a identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) que podem participar da etiologia

complexa de TAs, assim como da própria obesidade, condições poligênicas influenciadas por fatores ambientais.

A vulnerabilidade genética para a CAP abarca fatores relacionados às vias regulatórias do apetite e saciedade, metabolismo energético, além de perfis de personalidade e humor. Em relação à investigação de componentes genéticos e TAs, grande parte dos estudos concerne a genes relacionados a sistemas de neurotransmissores e neurodesenvolvimento, peptídeos reguladores do apetite e seus receptores, além de genes implicados na obesidade. Os resultados provenientes de alguns estudos de associação referentes a mutações genéticas, ao TCAP e aspectos relacionados são apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 - Estudos de mutações genéticas relacionadas à CAP e obesidade

Gene	N	Fator avaliado	Resultados	Referência
G152A e C214A, <i>GHRL</i>	209 mulheres	TCAP	C214A associado ao risco de TCAP	Monteleone <i>et al.</i> , 2007 (62)
Mutações no <i>MC4R</i>	1213 adultos	Obesidade e CAP	Mutações associadas com obesidade mais grave	Lubrano-Berthelier <i>et al.</i> , 2006 (63)
Mutações no <i>MC4R</i>	300 adultos	Perfil metabólico e CAP	Mutações associadas à CAP e pior perfil metabólico	Potoczna <i>et al.</i> , 2004 (64)
Mutações no <i>MC4R</i>	494 adultos	CAP e gasto energético de repouso	Mutações associadas à CAP, sem associação com demais parâmetros	Branson <i>et al.</i> , 2003 (65)
rs1799971 (A118G), <i>OPRM1</i>	300 adultos	CAP e preferência alimentar	rs1799971 associado à CAP e preferência por alimentos de alta densidade energética	Davis <i>et al.</i> , 2009 (66)
rs6265 (G196A), <i>BDNF</i>	210 mulheres	Gravidade da CAP na BN e TCAP	rs6265 associado à CAP mais grave	Monteleone <i>et al.</i> , 2006 (67)
rs6311 (A-1438G), <i>5-HTR2A</i>	131 mulheres	TCAP	rs6311 conferiu menor risco para o TCAP	Monteleone <i>et al.</i> , 2006 (68)
rs9939609, <i>FTO</i>	289 crianças e adolescentes	Perda de controle sobre o ato de comer	rs9939609 associado à maior perda de controle	Tanofsky-Kraff <i>et al.</i> , 2009 (69)

NOTA: *GHRL* - Gene da grelina. *MC4R* – Gene do receptor de melanocortina tipo 4. *OPRM1* – Gene do receptor mu-opiídeo. *BDNF* – Gene do fator neurotrófico derivado do cérebro. *5-HTR2A* – Gene do receptor de serotonina 2A. *FTO* - *Fat mass and obesity associated gene*.

1.6. Polimorfismo no gene da leptina

O gene da leptina (*LEP*) está localizado no braço longo do cromossomo 7 (7q31.3) e possui 3 éxons, sendo as sequências codificadoras da proteína situadas nos éxons 2 (215 bp) e 3 (438 bp) (70). O polimorfismo rs7799039 está localizado na posição -2548 da região promotora do gene. A estrutura do gene *LEP* e a posição aproximada do rs7799039 é ilustrada na Figura 1.2.

Figura 1.2 - Estrutura do gene *LEP*.

O gene é composto por 3 éxons. A figura ilustra o tamanho estimado dos íntrons e a posição aproximada do SNP rs7799039 na região promotora (modificado de Karvonen *et al.*, 1998).

1.6.1. rs7799039 (G-2548A)

Estudos sugerem que o rs7799039 (G-2548A, G>A) está associado à variação na leptinemia (71) e susceptibilidade à obesidade (72, 73). A presença do alelo A foi associada ao nível aumentado de leptina independentemente da massa gorda em adultos (74) e a homozigose para o alelo, a maiores níveis de leptina circulante em mulheres (75).

Diferentemente, mulheres portadoras do alelo G apresentaram maior risco para obesidade (76) e o alelo foi associado à maior leptina ajustada à massa gorda, sem associação com a obesidade, em meninas de estudo de coorte (77). Em outro estudo, a presença do alelo A também foi associada ao nível de leptina mais elevado em obesos (78). A frequência do alelo ancestral mais elevada em obesos mórbidos é documentada, sugerindo efeito protetor do polimorfismo (79).

1.7. Polimorfismos no gene do receptor da leptina

O gene do receptor de leptina (*LEPR*) está situado no braço curto do cromossomo 1 (1p31) e é constituído por 20 éxons (42). O domínio extracelular do ObR é codificado pelos éxons 3 a 17, enquanto o domínio transmembrana é codificado pelo éxon 18 e o domínio intracelular pelos éxons 19 e 20 (80).

Os polimorfismos rs1137100, rs1137101 e rs8179183 consistem em variantes comuns e exploradas em estudos no gene *LEPR* por se localizarem em éxons, apresentando maior potencial de afetar os domínios de interação com a leptina (74, 81). O rs1137100 (Lys109Arg, A>G) caracteriza-se pela troca de um aminoácido lisina (Lys) por um aminoácido arginina (Arg) no códon 109 (mudança no códon AAG para AGG) do éxon 4 e constitui-se de uma mutação do tipo conservativa, causando conservação da carga. A substituição do aminoácido glutamina (Gln) por um aminoácido Arg no códon 223 (mudança no códon CAG para CGG) do éxon 6 ocorre no rs1137101 (Gln223Arg, A>G), enquanto o rs8179183 (Lys656Asn, G>C) baseia-se na troca do aminoácido lisina (Lys) por uma asparagina (Asn) no códon 656 (mudança no códon AAG para AAC) localizado no éxon 14.

Os SNPs rs1137101 e rs8179183 consistem em mutações do tipo não-conservativas e, portanto, causam mudança de carga. A localização aproximada dos três polimorfismos no gene *LEPR* é representada na Figura 1.3.

Figura 1.3 - Estrutura do gene *LEPR*.

O gene é composto por 20 éxons representados pelas barras verticais numeradas. O tamanho estimado dos íntrons estão representados – com exceção do íntron 2, de tamanho desconhecido – e dos SNPs rs1137100, rs1137101 e rs8179183 (modificado de Thompson *et al.*, 1997).

1.7.1. rs1137100 (Lys109Arg)

O SNP rs1137100 (Lys109Arg, A>G) está associado ao maior nível de leptina circulante (82), alterações no metabolismo de carboidratos, decorrente da pior resposta insulinêmica em mulheres com intolerância à glicose e risco aumentado para o desenvolvimento de DM2 (83, 84). O polimorfismo também mostrou associação com fatores de risco para a aterosclerose em estudo conduzido em homens (85).

Rosmond *et al.* (2000), entretanto, sugeriram papel protetor do rs1137100 ao encontrar associação entre o alelo ancestral ao maior IMC e circunferência da cintura (86), apesar da associação não ter sido confirmada outros em estudos (87, 88).

1.7.2. rs1137101 (Gln223Arg)

A associação do rs1137101 (Gln223Arg, A>G) sobre os níveis de leptina e a obesidade é descrita em mulheres portadoras do alelo G que apresentaram valores mais elevados de adiposidade e nível sérico de leptina (89), achado observado também em estudo envolvendo adultos jovens (81).

Indivíduos homozigotos para o alelo G, após um seguimento médio de 6,8 anos e que haviam ganho uma média de 12,6 kg de peso, apresentaram níveis de leptina significativamente maiores quando comparados a homens sem a variante e que mantiveram o peso estável, sugerindo o papel do SNP e da resistência à leptina no desenvolvimento da obesidade a médio e longo prazo (82).

A associação do polimorfismo com a leptina, entretanto, apresenta resultados contraditórios. A homozigose para o alelo G foi associada à menor leptinemia em índios Pima (80) e também foi relacionada ao nível mais baixo de leptina ajustada para idade e IMC (78, 90). Por outro lado, em investigação do polimorfismo com indivíduos japoneses, os autores não observaram associação entre o rs1137101 com parâmetros antropométricos e metabólicos (91).

1.7.3. rs8179183 (Lys656Asn)

O rs8179183 (Lys656Asn, G>C) foi associado ao nível mais elevado de leptina em estudo com crianças e adolescentes homozigotas para o alelo C (92). A associação significativa, porém fraca, entre indivíduos de genótipo CC e maior valor de IMC foi descrita em obesos (93) e homens com peso normal (94).

Não obstante, em trabalho de intervenção com modificação do estilo de vida, obesos portadores do alelo C apresentaram melhor resposta ao tratamento, avaliados pela maior redução no IMC e circunferência da cintura quando comparados aos indivíduos dos demais genótipos (95).

Num estudo do mesmo grupo, porém comparando o efeito de duas dietas hipocalóricas – com baixo conteúdo de carboidratos e de lipídeos, respectivamente – observou-se que indivíduos portadores do alelo polimórfico apresentaram redução nos parâmetros de IMC e massa gorda independentemente do tipo de dieta, corroborando com a existência de um possível efeito protetor deste polimorfismo na resposta a tratamentos para o excesso de peso (96). Em ambos os estudos, porém, os autores não encontraram associação do rs8179183 e o nível de leptina (95, 96).

1.8. Justificativa do estudo

Os polimorfismos presentes no gene *LEP* podem exercer influências sobre a expressão da leptina ocasionando alterações de seus níveis no organismo, enquanto polimorfismos no gene *LEPR* podem afetar a capacidade de ligação da leptina a seus receptores e, conseqüentemente, as vias de sinalização da leptina que regulam o apetite e a saciedade. Estes fatores poderiam, portanto, influenciar a maior ou menor susceptibilidade à compulsão alimentar periódica.

Estudos de associação entre os polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* com a CAP, especialmente na população pediátrica, ainda são escassos e a investigação desses componentes permite a melhor compreensão da contribuição de fatores genéticos na etiopatogenia desta condição.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar a influência dos polimorfismos rs7799039 no gene *LEP* e rs1137101, rs1137100 e rs8179183 no gene *LEPR* sobre a compulsão alimentar periódica em crianças e adolescentes obesos.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar as crianças e adolescentes obesos quanto à compulsão alimentar periódica;
- Avaliar a influência dos polimorfismos sobre fatores de risco cardiometabólicos (RCM) e variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas;
- Verificar a associação dos polimorfismos com a obesidade comparando-se crianças e adolescentes obesos e eutróficos.

MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. Considerações éticas

Este estudo foi conduzido de acordo com princípios éticos, seguindo as orientações contidas na declaração de Helsinki. O projeto foi submetido à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) e aprovado como Protocolo de Pesquisa nº 0438/11 (Anexo A). Aos pais ou responsáveis legais de todas as crianças e adolescentes foi explanado o projeto de pesquisa e entregue o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), assinado em concordância, previamente ao início dos procedimentos (Anexo B).

3.2. Casuística

3.2.1. Grupo de crianças e adolescentes obesos

A população de crianças e adolescentes obesos abrangeu indivíduos de ambos os gêneros, com idade entre 7 e 19 anos, à procura de tratamento para obesidade no serviço da Liga Acadêmica de Obesidade Infantil da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HC-FMUSP.

Considerou-se como critério de inclusão, o diagnóstico de obesidade definido pelo valor escore Z do IMC ($Z\text{-IMC} \geq 2,0$), de acordo com os parâmetros específicos para idade e gênero da OMS (97). Os critérios de exclusão basearam-se no diagnóstico estabelecido de síndromes genéticas (ex. síndrome de Prader-Willi, síndrome de Bardet-Biedl ou outras), sinais clínicos sugestivos de síndromes genéticas, tais como critérios maiores e menores para síndrome de Prader-Willi (98), retinite pigmentosa associada à obesidade e retardo mental, obesidade de causa hipotalâmica ou endócrina (ex. síndrome de Cushing), uso crônico de medicamentos que possam promover alterações de peso e/ou tratamento em curso direcionado à perda de peso.

No grupo de crianças e adolescentes obesos, realizou-se a avaliação dos parâmetros antropométricos, clínicos, metabólicos, além da compulsão alimentar periódica e do estudo molecular.

3.2.2. Grupo controle

A inclusão do grupo controle de crianças e adolescentes eutróficos teve como finalidade examinar a associação dos SNPs nos genes *LEP* e *LEPR* com a obesidade por meio da comparação deste grupo com os indivíduos obesos.

O grupo controle foi constituído por crianças e adolescentes com idade entre 7 e 19 anos e estado nutricional adequado, conforme classificação de IMC para idade e gênero, determinado pelo valor de Z-IMC entre $-2,0 \leq e \leq 1,0$, segundo os parâmetros da OMS (97). Foram excluídos do estudo indivíduos em uso crônico de medicamentos que provocassem alteração de peso e/ou sob tratamento direcionado ao aumento ou diminuição de peso.

O recrutamento das crianças e adolescentes ocorreu a partir de escolas públicas do Estado de São Paulo, do Centro de Saúde Escola Geraldo de Paula Souza da Faculdade de Saúde Pública da USP, além do HC-FMUSP.

Para o grupo de crianças e adolescentes eutróficos foi realizada a avaliação das variáveis antropométricas, de compulsão alimentar periódica e o estudo molecular.

3.2.3. Composição dos grupos

Inicialmente, foram triadas 805 crianças e adolescentes no estudo, dentre as quais 643 apresentaram diagnóstico de obesidade e 162 de eutrofia. Após exclusões por critérios clínicos, ausência de dados de CAP ou de material genético, foram consideradas elegíveis 465 crianças e adolescentes no grupo com obesidade e 135 no grupo controle, conforme representado na Figura 3.1.

Figura 3.1 - Organograma representativo da amostra final de crianças e adolescentes no grupo com obesidade e no grupo controle (eutrófico).

3.3. Avaliação antropométrica, clínica e metabólica

3.3.1. Parâmetros antropométricos e clínicos

Peso (kg): o peso corporal foi aferido por meio de balança digital (Filizola®, Brasil), com capacidade máxima para 150 kg e precisão de 100 g. A medida foi verificada com o indivíduo descalço e trajando roupas leves.

Estatura (cm): a estatura foi mensurada em estadiômetro graduado em cm e com precisão de 1,0 mm, com o indivíduo descalço em posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilha, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro, estando a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt. A partir da medida da estatura, foi calculado o percentil de estatura, determinado de acordo com as tabelas do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) para idade e gênero (99).

Escore Z do IMC (Z-IMC): o Z-IMC foi determinado por meio do cálculo do índice de massa corporal (IMC) do indivíduo, obtido a partir da fórmula: $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Estatura (m)}^2$. Paralelamente, realizou-se o cálculo baseado no método LMS, no qual L representa o coeficiente (Box-Cox) empregado para normalização da curva, M expressa o valor da mediana e S, o coeficiente de variação, conforme a equação: $Z\text{-}IMC = [(IMC/M)^L - 1] / LS (100)$. Os parâmetros de L, M e S foram obtidos a partir dos estratos específicos de IMC para idade e gênero da OMS (97).

Relação cintura-estatura (RCE): a RCE foi definida mediante a aferição da circunferência da cintura, utilizando-se fita plástica inelástica e flexível, com precisão 1,0 mm. Como referencial anatômico, adotou-se a medida do ponto médio entre o rebordo costal inferior e a crista ilíaca. O paciente foi orientado a permanecer com o abdômen relaxado e em posição ereta, mantendo os braços paralelos ao corpo e os pés unidos, sendo a leitura da medida realizada no momento da expiração. A relação foi determinada pelo cálculo $RCE = \text{Circunferência da cintura (cm)} / \text{Estatura (cm)}$.

Composição corporal: a avaliação da composição corporal consistiu na quantificação de massa gorda (MG) estimada por meio da bioimpedância elétrica, método que permite a determinação dos compartimentos corpóreos com base em propriedades elétricas do organismo através da passagem de uma corrente elétrica de baixa intensidade. O indivíduo foi orientado a retirar calçados, meias, relógios e/ou qualquer objeto metálico para realização do exame e a manter-se deitado em decúbito dorsal sobre superfície não-condutora, com os braços em ângulo de 30° em relação ao seu corpo e as pernas sem contato entre si (101,102). A bioimpedância elétrica foi realizada com o posicionamento dos eletrodos no lado direito do indivíduo, sendo o eletrodo distal da mão colocado na base do dedo médio e o eletrodo proximal coincidindo com o processo estilóide, enquanto o eletrodo distal do pé foi posicionado na base do dedo médio e o proximal, entre os maléolos medial e lateral. Para avaliação corporal, utilizou-se o aparelho de bioimpedância elétrica tetrapolar Bia Quantum II Body Composition Analyzer® (RJL Systems Inc., Clinton Township, MI, EUA) e os dados foram processados com a utilização de software contendo equações que permitiram estimar individualmente o conteúdo de MG (103).

Pressão arterial (mmHg) e frequência cardíaca (FC): as aferições da pressão arterial e da frequência cardíaca foram realizadas por meio de medidor oscilométrico

Microlife BP 3AC1-1 PC® (Microlife Inc., Widnau, Suíça), validado pelo protocolo internacional da *European Society of Hypertension* (104, 105). Foi instruído ao indivíduo manter-se em repouso, sentado e recostado por cinco minutos em ambiente calmo e as medidas foram aferidas estando o indivíduo com o braço totalmente exposto e apoiado em suporte ao nível do coração, utilizando-se manguito de tamanho adequado com largura em torno de 40% da circunferência do braço posicionado à meia distância entre o acrômio e o olécrano (106). Considerou-se o valor final obtido a partir da média entre três aferições e a determinação da HAS foi estabelecida por meio dos valores de percentis de pressão arterial sistólica (PAS) e/ou diastólica (PAD) ≥ 95 , baseado em tabelas para gênero, idade e percentil de estatura para crianças e adolescentes (107, 108, 109).

Estadiamento puberal: o estágio puberal foi determinado conforme a sequência de etapas do desenvolvimento das características sexuais secundárias sistematizadas e propostas por Tanner, fundamentadas no grau de desenvolvimento genital e da pilosidade pubiana em meninos e no desenvolvimento mamário e pêlos púbicos em meninas (110, 111). Os indivíduos foram estratificados em dois grupos: (I) pré-púberes (genitália no estágio 1 ou 2 em meninos; mamas no estágio 1 em meninas) e (II) púberes (genitália a partir do estágio 3 em meninos; mamas a partir do estágio 2 em meninas) (112).

3.3.2. Parâmetros metabólicos

A coleta de sangue venoso periférico foi realizada após 12 horas em jejum de alimentos e de água e as análises foram conduzidas no Laboratório de Bioquímica da Divisão de Laboratório Central do HC-FMUSP e no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular (LIM-42) da Disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

Glicemia (mg/dL): a concentração plasmática de glicose foi determinada pelo método enzimático colorimétrico automatizado utilizando-se kits comerciais (Labtest Diagnóstica®, Brasil). Considerou-se a glicemia de jejum alterada (GJA) quando o valor da glicemia apresentado foi ≥ 100 mg/dL (113,114).

Insulina ($\mu\text{U/mL}$): a concentração sérica de insulina foi determinada por eletroquimioluminescência (AutoDelfia, Perkin Elmer Life Sciences Inc., Norton, OH, EUA).

Resistência à insulina: o parâmetro foi estimado pelo *Homeostatic model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR), modelo proposto para avaliar a resistência à insulina a partir das concentrações de glicose e insulina em jejum por meio da fórmula: $\text{HOMA-IR} = \text{Glicose (mg/dL)} \times \text{Insulina (}\mu\text{U/mL)} / 405$ (115).

Leptina (ng/mL) e **leptina ajustada** (ng/mL/kg): a leptina foi determinada por ensaio imunoenzimático utilizando-se kits comerciais #EZHL-80SK (EMD Millipore Corp., St. Charles, MO, EUA) calibrado com o padrão 97/554 do *National Institute for Biological Standards and Control* (NIBSC). Para cada indivíduo, a leptina foi avaliada ajustada à quantidade de massa gorda, calculada a partir da razão $\text{Leptina ajustada} = \text{Leptina (ng/mL)} / \text{Massa gorda (kg)}$.

Colesterol total (mg/dL), **lipoproteína de alta densidade (HDL-c)** (mg/dL) e **triglicérides (TG)** (mg/dL): as dosagens plasmáticas foram determinadas pelo método enzimático colorimétrico automatizado utilizando-se kits comerciais (Roche Diagnostics Corp., Indianápolis, IN, EUA). Como referência para os parâmetros de perfil lipídico, definiu-se como HDL-c baixo, quando o valor de HDL-c foi $< 45 \text{ mg/dL}$ e a hipertrigliceridemia quando o valor de TG apresentou-se $\geq 130 \text{ mg/dL}$ para crianças e adolescentes na faixa etária entre os 10 a 19 anos e $\geq 100 \text{ mg/dL}$ para crianças com até 10 anos de idade (116, 117).

Lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) (mg/dL): foi estimado pela fórmula de Friedewald, que consiste no cálculo de $\text{LDL-c} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-c} - (\text{Triglicérides} / 5)$ (118). Quando o valor de Triglicérides superou 400 mg/dL , procedeu-se com a dosagem direta do LDL-c, utilizando-se kits comerciais (Roche Diagnostics Corp., Indianápolis, IN, EUA).

Alanina aminotransferase (ALT) (U/L) e **aspartato aminotransferase (AST)** (U/L): as dosagens de ALT e AST foram realizadas pelo método cinético automatizado utilizando-se kits comerciais em analisador bioquímico Cobas Mira® (Roche Diagnostics Corp., Indianápolis, IN, EUA).

Ácido úrico (mg/dL): a concentração sérica de ácido úrico foi determinada pelo método enzimático colorimétrico automatizado utilizando-se kits comerciais (Roche Diagnostics Corp., Indianápolis, IN, EUA).

3.4. Avaliação da compulsão alimentar periódica

A compulsão alimentar periódica foi avaliada por meio da Escala de Compulsão Alimentar Periódica (ECAP), questionário que avalia manifestações comportamentais, sentimentos e cognições envolvidas nos episódios de compulsão alimentar em indivíduos obesos, desenvolvido na década de 80 por Gormally *et al.* (119). A ECAP consiste na versão traduzida e validada ao português da *Binge Eating Scale* (BES) (120) e é composta por 16 itens com 62 afirmativas no total, dentre as quais deve ser assinalado, em cada item, a afirmativa que melhor representa a resposta do indivíduo. A construção do questionário procedeu por meio de três etapas:

Primeiramente, definiu-se as características da CAP, originando um grupo de 16 itens, dentre os quais oito consistiam em manifestações comportamentais (por exemplo, o ato de comer escondido) e oito descreviam sentimentos e cognições (como a sensação de falta de controle após um episódio) relacionadas à CAP.

Na segunda etapa, foram construídas afirmativas que refletiam a gravidade de cada característica, sendo a elas atribuídas pontos, numa escala de Likert – em que o entrevistado deve indicar seu grau de concordância ou discordância com declarações relativas ao parâmetro medido e as declarações de concordância recebem valores mais altos enquanto as declarações das quais se discorda recebem valores baixos (121).

Na última etapa, os autores utilizaram-se de três dimensões para criar um critério externo de gravidade do episódio de compulsão alimentar baseado na frequência, quantidade de alimento ingerida e o grau de emoção envolvido.

Quanto às propriedades psicométricas, a BES e a ECAP apresentaram consistência interna moderadamente alta avaliada pelo α de Cronbach ($\alpha = 0,85$ e $0,89$, respectivamente) (119,122, 123) e Greeno *et al.* (1995), em estudo comparativo do questionário com o *Eating Disorder Examination* (EDE), entrevista semi-estruturada concebida para o diagnóstico de transtornos alimentares, obtiveram concordância entre os dois instrumentos na classificação de indivíduos obesos sem CAP de 92,9% e com

CAP de 51,8% (124), sugerindo a sua utilização para a identificação de indivíduos sem CAP e como instrumento útil para o seu rastreamento.

A afirmativa de cada questão corresponde a determinado número de pontos que variam de 0 (zero) a 3 (três), em que 0 corresponde à ausência e 3, gravidade máxima. O escore final, obtido pela somatória de pontos de todas as afirmativas, permite a classificação do indivíduo em três categorias de CAP segundo os pontos de corte sugeridos pelos autores do questionário: grave (pontuação ≥ 27), moderada (pontuação entre 18 e 26) ou ausente (pontuação ≤ 17) (120) (Anexo C).

Os indivíduos foram classificados em grupos de CAP ausente, quando o escore final obtido foi menor ou igual a 17 pontos e CAP presente, quando o escore final foi superior a 17 pontos. O questionário foi preenchido somente pelos indivíduos que apresentavam capacidade de leitura e compreensão do mesmo e, caso necessário, o auxílio na leitura de questões pontuais foi realizada pelo pesquisador.

3.5. Estudo molecular

As etapas relativas ao estudo molecular foram realizadas no Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaios (LIM-18) da FMUSP.

3.5.1. Extração do DNA genômico

A genotipagem para determinação dos polimorfismos do grupo de crianças e adolescentes obesos e do grupo controle foi realizada em ácido desoxirribonucleico (DNA) genômico obtido a partir de 15 mL de sangue periférico colhidos com 25 mM de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). A técnica para extração de DNA seguiu o protocolo de Miller *et al.* (1998) pelo método “*salting-out*” (125).

Nos indivíduos do grupo controle, a extração de DNA foi realizada a partir de amostra de 2 mL de saliva coletada utilizando-se kit comercial Oragene DNA G-500® (DNA Genotek Inc., Ontario, CA), quando não foi possível a coleta de sangue periférico. A obtenção da amostra foi conduzida seguindo os protocolos padronizados estabelecidos pelo fabricante, mediante a orientação do indivíduo a permanecer sem ingerir alimentos, bebidas ou utilizar-se de qualquer substância capaz de remoção das células da mucosa oral pelo período mínimo de 30 minutos previamente à coleta de amostra (Anexo D).

A concentração e a pureza de todas as amostras de DNA genômico foram determinadas através da leitura de densidade óptica em espectrofotômetro NanoDrop® (Thermo Scientific Inc., Wilmington, DE, EUA). As amostras foram diluídas para a faixa de concentração final de 100 ng/μL para a realização da genotipagem e armazenadas no Banco de DNA do LIM-18 da FMUSP.

3.5.2. Genotipagem dos polimorfismos

Para a genotipagem dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR*, realizou-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, técnica em que a reação de PCR de cada ensaio ocorre simultaneamente à leitura dos resultados.

Para cada reação, utilizou-se um volume final de 10 μL contendo: H₂O Milli-Q® – 3,5 μL, ensaio TaqMan® – 0,5 μL, TaqMan Genotyping Master Mix® – 5,0 μL e DNA genômico (10ng/μL) – 1,0 μL. A genotipagem dos SNPs foi realizada pelos ensaios TaqMan® (Applied Biosystems - Life Technologies Inc., Foster City, CA, EUA) designados para cada polimorfismo, conforme apresentado na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Identificação dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* e respectivos ensaios TaqMan®

Gene	dbSNP		Localização	Ensaio TaqMan® ID
<i>LEP</i>	rs7799039	G-2548A	Região Promotora	c_8722581_10
	rs1137100	Lys109Arg	Éxon 4	c_518168_20
<i>LEPR</i>	rs1137101	Gln223Arg	Éxon 6	c_8722378_10
	rs8179183	Lys656Asn	Éxon 14	c_1328079_10

FONTE: National Center for Biotechnology National Center for Biotechnology Information (NCBI) (126).

A PCR em tempo real foi realizada em equipamento StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems - Life Technologies Inc., Foster City, CA, EUA), seguindo o protocolo especificado pelo fabricante: 10 minutos a 95°C e 40 ciclos de 15 segundos a 92°C, seguidos por 1 minuto a 60°C. A visualização do resultado ilustrativo obtido através do sinal de fluorescência TaqMan® para discriminação alélica do SNP rs7799039 no gene *LEP* é apresentado na Figura 3.2. A confiabilidade da genotipagem para cada um dos polimorfismos foi verificada por meio do

sequenciamento automático de três indivíduos controle com distinção entre os genótipos: homozigoto para o alelo ancestral, heterozigoto e homozigoto para o alelo polimórfico.

Figura 3.2 - Discriminação alélica visualizada por meio do sinal de fluorescência TaqMan® para o rs7799039 no gene *LEP*.

3.6. Análise estatística

A amostra de crianças e adolescentes foi caracterizada quanto às variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas. Para as variáveis contínuas, a apresentação dos dados foi realizada pelo cálculo da média, desvio padrão, mediana e intervalos interquartis, enquanto para variáveis nominais, foram apresentadas as frequências absolutas e relativas. As variáveis contínuas foram submetidas ao teste de Kolmogorov-Smirnov para verificação de normalidade e, em caso de distribuição não paramétrica, foi realizada a transformação logarítmica.

Para as comparações entre grupos de variáveis contínuas foram utilizados o Teste T de Student ou Teste Mann-Whitney U, respectivamente, para variáveis contínuas com distribuição paramétrica e não paramétrica.

As frequências dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* foram testadas utilizando-se o Teste de Qui-Quadrado (χ^2) para o cálculo do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). As análises dos polimorfismos foram conduzidas pelo modelo dominante, no qual indivíduos homozigotos para o alelo ancestral e indivíduos portadores do alelo polimórfico são comparados. Adotou-se este modelo com a finalidade de diminuir o número de classes e elevar o poder estatístico da amostra.

A avaliação de desequilíbrio de ligação entre os polimorfismos foi realizada por meio do programa CubeX: Cubic Exact Solution (127) e através do programa PHASE versão 2.1.1 foram estimadas as frequências de haplótipos e diplótipos (genótipos de haplótipos) no grupo de crianças e adolescentes obesos e o grupo controle (128, 129).

As análises envolvendo o grupo de crianças e adolescentes obesos foi realizada considerando: (I) todos os indivíduos para a análise descritiva; (II) discriminadamente por gênero para examinar influência dos polimorfismos sobre a CAP e fatores de RCM e (III) estratificadas por gênero e estágio puberal na avaliação entre os polimorfismos e variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas.

Para a comparação entre as frequências dos polimorfismos entre os grupos de CAP ausente e presente e entre o grupo de crianças e adolescentes obesos e o grupo controle, procedeu-se com a análise de regressão logística ajustada para variáveis de

confusão e a magnitude do risco conferido por cada variável foi estimada pela razão de chances – *Odds Ratio* (OR) – e respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%.

As análises estatísticas foram executadas no programa SPSS Statistics® versão 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, IL, EUA) e o nível de significância estabelecido inicialmente em cada teste de hipótese foi de $p < 0,05$. A correção de Bonferroni foi realizada para ajuste do nível de significância de múltiplas comparações envolvendo os SNPs.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Características da população

4.1.1. Grupo de crianças e adolescentes obesos

Foram avaliadas 465 crianças e adolescentes obesos, sendo 245 (52,7%) do gênero feminino, com idade média de $12,5 \pm 2,9$ anos e Z-IMC de $3,27 \pm 0,65$. As características do grupo em relação às variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas são apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Características antropométricas, clínicas e metabólicas do grupo de crianças e adolescentes obesos

	Média ± DP	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Idade (anos)	12,5 ± 2,9	10,3	12,4	14,8
ECAP (escore)	17,3 ± 8,5	11,0	17,0	23,0
Z-IMC	3,27 ± 0,65	2,86	3,27	3,67
Massa gorda (%)	39,4 ± 6,8	35,0	40,0	43,0
RCE	0,66 ± 0,08	0,60	0,65	0,71
Leptina (ng/mL)	52,0 ± 28,5	33,2	47,3	66,2
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,64 ± 0,82	1,06	1,50	2,04
PAS (percentil)	72,2 ± 24,0	57,0	79,0	91,0
PAD (percentil)	62,6 ± 22,5	46,0	65,0	81,0
FC	83,0 ± 13,8	73,0	82,0	91,2
Glicose (mg/dL)	80,0 ± 10,5	74,0	80,0	86,0
Insulina (μU/mL)	25,0 ± 15,4	14,2	20,8	32,6
HOMA-IR	5,0 ± 3,4	2,7	4,0	6,6
Colesterol total (md/dL)	168,0 ± 34,4	147,0	164,5	188,0
LDL-c (mg/dL)	102,0 ± 30,0	83,0	99,0	119,5
HDL-c (mg/dL)	43,7 ± 9,6	37,0	42,0	49,0
Triglicérides (mg/dL)	110,9 ± 9,1	76,0	102,0	137,0
ALT (U/L)	23,8 ± 13,7	16,0	20,0	27,2
AST (U/L)	23,3 ± 8,8	19,0	22,0	26,0
Ácido úrico (mg/dL)	5,6 ± 1,3	4,6	5,4	6,3
Estatura (percentil)	69,5 ± 28,0	50,0	79,0	94,0
Feminino : Masculino	245 (52,7%) : 220 (47,3%)			
Pré-púberes : Púberes	196 (42,2%) : 269 (57,8%)			

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão; mediana e percentil 25 e 75 para variáveis contínuas. Frequência absoluta (N) e relativa (%) para variáveis categóricas. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

Em relação à classificação das crianças e adolescentes quanto aos fatores de RCM normais ou alterados, verificou-se que a HAS esteve presente em 93 (21,2%) e a GJA em 17 (3,7%) dos indivíduos, ao passo que o HDL-c baixo e a hipertrigliceridemia foi observada em, respectivamente, 268 (58,4%) e 158 (34,8%) da amostra. Os gráficos de frequências para cada fator de RCM estão representados na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Frequência de classificação dos fatores de RCM.

4.1.2. Grupo controle

O grupo controle foi constituído por 135 crianças e adolescentes, sendo 74 (54,8%) do gênero feminino. A idade média observada foi de $10,6 \pm 1,3$ anos e o Z-IMC de $-0,18 \pm 0,72$, conforme demonstrado na Tabela 4.2. Ao comparar as crianças e adolescentes obesos e eutróficos, o grupo com obesidade apresentou maior média de idade ($12,5 \pm 2,9$ vs. $10,6 \pm 1,3$ anos; $p < 0,001$), Z-IMC ($3,27 \pm 0,65$ vs. $-0,18 \pm 0,72$; $p < 0,001$), escore na ECAP ($17,3 \pm 8,5$ vs. $7,6 \pm 5,2$; $p < 0,001$) e percentil de estatura ($69,5 \pm 28,0$ vs. $50,8 \pm 27,6$; $p < 0,001$) em comparação ao grupo controle.

Tabela 4.2 - Características antropométricas e clínicas do grupo controle

	Média $\pm$ DP	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
Idade (anos)	$10,6 \pm 1,3$	9,9	10,4	11,2
ECAP (escore)	$7,6 \pm 5,2$	4,0	7,0	10,0
Z-IMC	$-0,18 \pm 0,72$	-0,63	-0,08	0,33
Estatura (percentil)	$50,8 \pm 27,6$	28,0	50,0	77,0
Feminino : Masculino	74 (54,8%) : 61 (45,2%)			
Pré-púberes : Púberes	110 (81,5%) : 25 (18,5%)			

NOTA: Dados apresentados em média $\pm$ desvio-padrão; mediana e percentil 25 e 75 para variáveis contínuas. Frequência absoluta (N) e relativa (%) para variáveis categóricas. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC.

4.1.3. Classificação da compulsão alimentar periódica

Em relação à classificação da gravidade da CAP, avaliada pelo escore na ECAP, observou-se que 243 (52,2%), 144 (31,0%) e 78 (16,8%) das crianças e adolescentes obesos apresentaram, respectivamente, CAP ausente, moderada e grave. Entre os indivíduos do grupo controle, 127 (94,1%) das crianças e adolescentes examinados foram classificados com CAP ausente e 8 (5,9%) com CAP moderada. Não houve observação de caso classificado como grave neste grupo (Figura 4.2).

Foi verificada maior frequência de crianças e adolescentes obesos no grupo de CAP presente (OR= 3,773; IC 95% 1,129 – 12,613; $p = 0,031$) em comparação ao grupo controle quando ajustada para a idade e Z-IMC. A diferença, entretanto, não foi mantida após ajuste também para o gênero ($p = 0,087$).

Figura 4.2 – Frequência de classificação da CAP no grupo de crianças e adolescentes obesos e controle.

4.2. Comparação entre o gênero no grupo de crianças e adolescentes obesos

Na comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas entre o gênero feminino e masculino, verificou-se que as meninas apresentaram maior escore na ECAP ($18,7 \pm 8,5$ vs. $15,9 \pm 8,2$; $p < 0,001$), percentual de massa gorda ($40,7 \pm 6,6$ vs. $38,0 \pm 6,7$; $p < 0,001$), leptina ($57,7 \pm 28,4$ vs. $45,8 \pm 27,3$ ng/mL; $p < 0,001$), assim como a leptina ajustada à quantidade de massa gorda ($1,87 \pm 0,76$ vs. $1,46 \pm 0,84$ ng/mL/kg; $p < 0,001$) em comparação aos meninos. Os meninos, por sua vez, exibiram maior média de Z-IMC ($3,40 \pm 0,60$ vs. $3,17 \pm 0,65$; $p < 0,001$), enzimas hepáticas alanina ($27,0 \pm 15,0$ vs. $20,9 \pm 11,7$ U/L; $p < 0,001$) e aspartato aminotransferase ($24,9 \pm 7,4$ vs. $21,9 \pm 9,7$ U/L; $p < 0,001$), ácido úrico ($5,8 \pm 1,5$ vs. $5,2 \pm 1,1$ mg/dL; $p < 0,001$) e percentil de estatura ($72,8 \pm 26,2$ vs. $66,6 \pm 29,3$; $p = 0,018$), conforme demonstrado na Tabela 4.3.

Quanto à avaliação de classificação da CAP, observou-se maior frequência de meninas no grupo de CAP presente (OR= 2,146; IC 95% 1,461 – 3,152; $p < 0,001$) em comparação aos meninos, após ajuste para idade e Z-IMC. Em virtude da diferença visualizada entre os gêneros em relação à CAP, as análises relativas a este parâmetro foram conduzidas discriminadamente por gênero.

Tabela 4.3 - Características antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao gênero do grupo de crianças e adolescentes obesos

	Gênero		p
	Feminino (N= 245)	Masculino (N= 220)	
Idade (anos)	12,6 ± 3,0	12,4 ± 2,8	0,373
ECAP (escore)	18,7 ± 8,5	15,9 ± 8,2	<0,001
Z-IMC	3,17 ± 0,65	3,40 ± 0,60	<0,001
Massa gorda (%)	40,7 ± 6,6	38,0 ± 6,7	<0,001
RCE	0,65 ± 0,08	0,66 ± 0,08	0,365
PAS (percentil)	72,7 ± 23,6	71,6 ± 24,5	0,667
PAD (percentil)	61,2 ± 23,2	64,2 ± 21,8	0,248
FC	83,2 ± 14,2	82,8 ± 13,3	0,836
Leptina (ng/mL)	57,7 ± 28,4	45,8 ± 27,3	<0,001
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,80 ± 0,76	1,46 ± 0,84	<0,001
Glicose (mg/dL)	79,0 ± 10,8	81,3 ± 9,9	0,250
Insulina (μU/mL)	25,3 ± 15,7	24,5 ± 14,9	0,742
HOMA-IR	5,1 ± 3,5	5,0 ± 3,2	0,856
Colesterol total (md/dL)	167,3 ± 34,5	168,7 ± 34,4	0,443
LDL-c (mg/dL)	101,7 ± 30,3	102,4 ± 29,8	0,616
HDL-c (mg/dL)	43,9 ± 8,9	43,6 ± 10,4	0,395
Triglicérides (mg/dL)	106,7 ± 44,9	115,7 ± 53,2	0,099
ALT (U/L)	20,9 ± 11,7	27,0 ± 15,0	<0,001
AST (U/L)	21,9 ± 9,7	24,9 ± 7,4	<0,001
Ácido úrico (mg/dL)	5,2 ± 1,1	5,8 ± 1,5	<0,001
Estatura (percentil)	66,6 ± 29,3	72,8 ± 26,2	0,018

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

4.2.1. Comparação entre os grupos de compulsão alimentar periódica quanto ao gênero

Na comparação de crianças e adolescentes obesos por grupos de CAP no gênero feminino, demonstrou que as meninas no grupo de CAP presente apresentaram maior Z-IMC ($3,27 \pm 0,65$ vs. $3,04 \pm 0,62$; $p < 0,001$), RCE ($0,67 \pm 0,08$ vs. $0,64 \pm 0,07$; $p < 0,001$), insulina ($27,2 \pm 16,3$ vs. $23,0 \pm 14,8$ ng/mL; $p = 0,040$) e uma tendência ao HOMA-IR mais elevado ($p = 0,065$) em comparação ao grupo de CAP ausente (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 - Comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas entre os grupos de CAP no gênero feminino

	CAP		p
	Ausente (N= 110)	Presente (N= 135)	
Idade (anos)	12,5 ± 3,1	12,7 ± 3,0	0,497
ECAP (escore)	11,1 ± 4,0	24,9 ± 5,7	<0,001
Z-IMC	3,04 ± 0,62	3,27 ± 0,65	0,005
Massa gorda (%)	40,0 ± 6,9	41,2 ± 6,2	0,111
RCE	0,64 ± 0,07	0,67 ± 0,08	<0,001
PAS (percentil)	72,0 ± 24,4	73,2 ± 23,0	0,811
PAD (percentil)	62,2 ± 24,3	60,4 ± 22,3	0,506
FC	83,4 ± 13,8	83,0 ± 14,6	0,562
Leptina (ng/mL)	54,7 ± 27,9	59,9 ± 28,7	0,087
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,82 ± 0,70	1,78 ± 0,81	0,473
Glicose (mg/dL)	79,3 ± 10,1	78,7 ± 11,4	0,925
Insulina (μU/mL)	22,9 ± 14,8	27,2 ± 16,3	0,040
HOMA-IR	4,6 ± 3,3	5,4 ± 3,6	0,065
Colesterol total (md/dL)	165,4 ± 31,9	168,9 ± 36,5	0,504
LDL-c (mg/dL)	99,8 ± 27,1	103,4 ± 32,7	0,538
HDL-c (mg/dL)	44,5 ± 9,7	43,3 ± 8,2	0,426
Triglicérides (mg/dL)	106,4 ± 46,6	106,9 ± 43,5	0,828
ALT (U/L)	21,2 ± 13,1	20,7 ± 10,5	0,945
AST (U/L)	22,5 ± 12,4	21,5 ± 6,6	0,664
Ácido úrico (mg/dL)	5,2 ± 1,1	5,2 ± 1,1	0,953

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

Na avaliação dos parâmetros antropométricos, clínicos e metabólicos no gênero masculino, observou-se que os meninos classificados com CAP apresentaram maior Z-IMC ($3,50 \pm 0,58$ vs. $3,30 \pm 0,67$; $p = 0,022$), percentual de massa gorda ($39,1 \pm 6,3$ vs. $37,2 \pm 6,8$; $p = 0,026$), RCE ($0,68 \pm 0,08$ vs. $0,65 \pm 0,08$; $p = 0,006$) quando

comparados ao grupo de CAP ausente (Tabela 4.5). O valor médio da leptina foi mais elevado no grupo de CAP presente, porém a diferença não apresentou significância estatística ($p = 0,072$).

Tabela 4.5 - Comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas entre os grupos de CAP no gênero masculino

	CAP		p
	Ausente (N= 133)	Presente (N= 87)	
Idade (anos)	12,6 ± 2,8	12,1 ± 2,7	0,229
ECAP (escore)	10,6 ± 4,5	23,9 ± 5,5	<0,001
Z-IMC	3,30 ± 0,67	3,50 ± 0,58	0,022
Massa gorda (%)	37,2 ± 6,8	39,1 ± 6,3	0,026
RCE	0,65 ± 0,07	0,68 ± 0,08	0,006
PAS (percentil)	71,5 ± 25,2	71,6 ± 23,5	0,824
PAD (percentil)	63,9 ± 21,7	64,5 ± 21,9	0,829
FC	81,4 ± 12,1	84,8 ± 14,8	0,077
Leptina (ng/mL)	42,5 ± 23,1	50,8 ± 32,1	0,072
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,41 ± 0,82	1,54 ± 0,86	0,200
Glicose (mg/dL)	80,9 ± 10,0	81,9 ± 9,8	0,575
Insulina (μU/mL)	23,6 ± 14,2	26,2 ± 16,3	0,343
HOMA-IR	4,7 ± 2,9	5,4 ± 3,7	0,245
Colesterol total (md/dL)	169,2 ± 35,2	167,9 ± 33,4	0,800
LDL-c (mg/dL)	103,3 ± 31,1	100,9 ± 27,7	0,572
HDL-c (mg/dL)	44,1 ± 11,2	42,8 ± 9,1	0,484
Triglicérides (mg/dL)	113,7 ± 54,2	118,8 ± 51,7	0,302
ALT (U/L)	25,0 ± 12,4	30,1 ± 17,9	0,072
AST (U/L)	24,3 ± 6,8	25,9 ± 8,0	0,212
Ácido úrico (mg/dL)	5,8 ± 1,4	5,7 ± 1,6	0,490

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

4.2.2. Avaliação da compulsão alimentar periódica quanto aos fatores de risco cardiometabólicos

A investigação da influência da CAP sobre o risco cardiometabólico, não mostrou a existência de diferenças entre os grupos com e sem CAP para os fatores de RCM, conforme apresentado na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 - Frequência da CAP quanto aos fatores de risco cardiometabólicos

Fator de RCM		Feminino			Masculino		
		CAP		p	CAP		p
		Ausente N (%)	Presente N (%)		Ausente N (%)	Presente N (%)	
HAS	-	85 (44,5)	106 (55,5)	0,533	88 (56,8)	67 (43,2)	0,162
	+	19 (45,2)	23 (54,8)		33 (64,7)	18 (35,3)	
GJA	-	106 (44,7)	131 (55,3)	0,661	129 (62,0)	79 (38,0)	0,292
	+	4 (50,0)	4 (50,0)		4 (44,4)	5 (55,6)	
HDL-c baixo	-	50 (49,0)	52 (51,0)	0,462	57 (64,0)	32 (36,0)	0,571
	+	60 (43,2)	79 (56,8)		76 (58,9)	53 (41,1)	
TG elevado	-	72 (44,7)	89 (55,3)	0,518	86 (63,7)	49 (36,3)	0,430
	+	38 (49,4)	39 (50,6)		46 (56,8)	35 (43,2)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal. Fator de risco cardiometabólico (-) normal ou (+) alterado. HAS - Hipertensão arterial sistêmica. GJA - Glicemia de jejum alterada. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. TG - Triglicérides.

4.3. Avaliação dos polimorfismos no grupo de crianças e adolescentes obesos

4.3.1. Frequência dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR*

As frequências genotípicas dos polimorfismos apresentaram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg no grupo de crianças e adolescentes obesos. As frequências alélicas e genotípicas observadas para os polimorfismos podem ser visualizadas na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Frequências dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR*

SNP		Alelos		Genótipos			p
		G	A	GG	AG	AA	
rs7799039 (G>A)	N (%)	606 (65,2)	324 (34,8)	198 (42,6)	210 (45,1)	57 (12,3)	0,901
		A	G	AA	AG	GG	
rs1137100 (A>G)	N (%)	763 (82,0)	167 (18,0)	319 (68,6)	125 (26,9)	21 (4,5)	0,059
		A	G	AA	AG	GG	
rs1137101 (A>G)	N (%)	520 (55,9)	410 (44,1)	144 (31,0)	232 (49,9)	89 (19,1)	0,796
		G	C	GG	CG	CC	
rs8179183 (G>C)	N (%)	743 (79,9)	187 (20,1)	303 (65,1)	137 (29,5)	25 (5,4)	0,074

NOTA: Valor de p para o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

4.3.2. Avaliação dos polimorfismos quanto à compulsão alimentar periódica

A observação das frequências dos polimorfismos foi avaliada quanto à presença ou ausência da CAP. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em ambos os gêneros, conforme apresentado na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Frequências dos polimorfismos entre os grupos de compulsão alimentar periódica

	Feminino			Masculino		
	CAP		p	CAP		p
	Ausente	Presente		Ausente	Presente	
	N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
rs7799039						
GG	48 (43,6)	63 (46,7)	0,747	52 (39,1)	35 (40,2)	0,707
GA/AA	62 (56,4)	72 (53,3)		81 (60,9)	52 (59,8)	
rs1137100						
AA	74 (67,3)	100 (74,1)	0,326	89 (66,9)	56 (64,4)	0,685
AG/GG	36 (32,7)	35 (25,9)		44 (33,1)	31 (35,6)	
rs1137101						
AA	35 (31,8)	47 (34,8)	0,691	39 (29,3)	23 (26,4)	0,688
AG/GG	75 (68,2)	88 (65,2)		94 (70,7)	64 (73,6)	
rs8179183						
GG	74 (67,3)	83 (61,5)	0,425	87 (65,4)	59 (67,8)	0,570
GC/CC	36 (32,7)	52 (38,5)		46 (34,6)	28 (32,2)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal.

4.4. Estudo dos polimorfismos quanto aos fatores de risco cardiometabólicos e variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas

4.4.1. Avaliação do rs7799039 no gene *LEP*

A investigação da influência do rs7799039 (G>A) sobre fatores de RCM, realizada por meio da observação da frequência dos genótipos para cada fator, não demonstrou haver diferenças em ambos os gêneros, como apresentado na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 - Frequência do rs7799039 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos

Fator de RCM		Feminino			Masculino		
		rs7799039		P	rs7799039		P
		GG N (%)	GA/AA N (%)		GG N (%)	GA/AA N (%)	
HAS	-	85 (44,5)	106 (55,5)	0,464	66 (42,6)	89 (57,4)	0,600
	+	18 (42,9)	24 (57,1)		19 (37,3)	32 (62,7)	
GJA	-	107 (45,1)	130 (54,9)	0,836	83 (39,9)	125 (60,1)	0,583
	+	4 (50,0)	4 (50,0)		3 (33,3)	6 (66,7)	
HDL-c baixo	-	47 (46,1)	55 (53,9)	0,956	34 (38,2)	55 (61,8)	0,927
	+	63 (45,3)	76 (54,7)		53 (41,1)	76 (58,9)	
TG elevado	-	76 (47,2)	85 (52,8)	0,347	50 (37,0)	85 (63,0)	0,203
	+	34 (44,2)	43 (55,8)		37 (45,7)	44 (54,3)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal. Fator de risco cardiometabólico (-) normal ou (+) alterado. HAS - Hipertensão arterial sistêmica. GJA - Glicemia de jejum alterada. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. TG - Triglicérides.

As variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas foram comparadas entre os genótipos do rs7799039 estratificadamente quanto ao gênero e estágio puberal. No gênero feminino, as meninas pré-púberes de genótipo GG apresentaram menor nível de leptina ($39,3 \pm 16,2$ vs. $49,0 \pm 23,3$ ng/mL; $p = 0,041$), colesterol total ($160,2 \pm 30,4$ vs. $176,4 \pm 39,8$ mg/dL; $p = 0,049$), concomitantemente à tendência ($p = 0,055$) para menor leptina ajustada à quantidade de massa gorda em comparação às meninas de genótipo GA/AA (Figura 4.3).

Figura 4.3 - Comparação da média de leptina e leptina ajustada entre os genótipos do rs7799039 em meninas pré-púberes (*p = 0,041; **p = 0,055).

Não foi observada diferença quanto às variáveis analisadas entre as meninas púberes, conforme apresentado na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 – Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs7799039 no gênero feminino

	rs7799039 (G>A)					
	Pré-púbere			Púbere		
	GG (N= 38)	GA/AA (N= 39)	P	GG (N= 73)	GA/AA (N= 95)	P
Idade (anos)	9,1 ± 1,6	9,4 ± 1,5	0,441	14,5 ± 2,1	13,9 ± 2,2	0,076
ECAP (escore)	18,0 ± 8,1	17,2 ± 9,4	0,426	19,7 ± 8,2	18,9 ± 8,6	0,532
Z-IMC	3,34 ± 0,84	3,27 ± 0,68	0,887	3,14 ± 0,67	3,08 ± 0,49	0,369
Massa gorda (%)	39,0 ± 7,3	38,1 ± 6,6	0,541	41,9 ± 7,1	41,5 ± 5,4	0,280
RCE	0,64 ± 0,07	0,64 ± 0,06	0,850	0,67 ± 0,09	0,66 ± 0,07	0,335
PAS (percentil)	73,1 ± 23,3	77,5 ± 23,3	0,381	68,1 ± 26,2	74,0 ± 21,5	0,236
PAD (percentil)	61,2 ± 25,7	71,1 ± 20,8	0,079	59,5 ± 23,0	58,5 ± 22,6	0,839
FC	85,8 ± 13,8	88,1 ± 14,3	0,503	82,3 ± 15,4	80,9 ± 12,9	0,610 ¹
Leptina (ng/mL)	39,3 ± 16,2	49,0 ± 23,3	0,041	69,6 ± 33,8	59,8 ± 25,1	0,077
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,8 ± 0,7	2,2 ± 1,0	0,055	1,8 ± 0,7	1,6 ± 0,6	0,214
Glicose (mg/dL)	78,0 ± 10,2	75,9 ± 10,6	0,373	79,0 ± 11,9	80,5 ± 10,1	0,340
Insulina (μU/mL)	20,0 ± 12,9	22,7 ± 15,1	0,554	27,5 ± 8,5	26,6 ± 14,2	0,652
HOMA-IR	3,9 ± 2,7	4,3 ± 3,2	0,734	5,5 ± 4,2	5,4 ± 3,2	0,510
Colesterol total (mg/dL)	160,2 ± 30,4	176,4 ± 39,8	0,049	166,4 ± 36,4	168,0 ± 31,7	0,501
LDL-c (mg/dL)	95,1 ± 27,9	106,6 ± 33,8	0,113	102,1 ± 32,8	99,8 ± 27,3	0,267
HDL-c (mg/dL)	43,3 ± 8,0	44,3 ± 8,4	0,626	43,7 ± 8,5	44,1 ± 9,9	0,869
Triglicérides (mg/dL)	110,7 ± 52,2	123,7 ± 49,0	0,192	100,3 ± 41,2	103,4 ± 41,5	0,598
ALT (U/L)	20,9 ± 10,1	21,1 ± 5,5	0,142	22,2 ± 15,9	19,9 ± 10,4	0,473
AST (U/L)	24,0 ± 5,8	23,2 ± 4,4	0,866	23,2 ± 15,7	19,6 ± 4,7	0,099
Ácido úrico (mg/dL)	4,9 ± 1,0	5,0 ± 1,2	0,622	5,3 ± 1,1	5,4 ± 1,2	0,591

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

Na comparação realizada no gênero masculino, os meninos pré-púberes portadores do alelo A apresentaram maior glicemia ($82,9 \pm 8,3$ vs. $79,1 \pm 8,2$ mg/dL; $p = 0,018$) em comparação a homozigotos ao alelo ancestral. Dentre os meninos púberes, esta diferença não se mostrou estatisticamente significativa ($p = 0,064$), conforme apresentado na Tabela 4.11.

Tabela 4.11 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs7799039 no gênero masculino

	rs7799039 (G>A)					
	Pré-púbere			Púbere		
	GG (N= 42)	GA/AA (N= 77)	P	GG (N= 45)	GA/AA (N= 56)	P
Idade (anos)	10,5 ± 1,8	10,6 ± 1,9	0,867	14,7 ± 2,2	14,3 ± 2,2	0,365
ECAP (escore)	17,2 ± 8,3	15,9 ± 8,8	0,435	14,4 ± 7,5	15,9 ± 7,8	0,352
Z-IMC	3,42 ± 0,54	3,43 ± 0,78	0,952	3,26 ± 0,61	3,38 ± 0,54	0,284
Massa gorda (%)	37,7 ± 8,0	39,0 ± 6,4	0,350	36,9 ± 5,6	38,4 ± 5,4	0,166
RCE	0,66 ± 0,07	0,65 ± 0,07	0,852	0,66 ± 0,10	0,68 ± 0,08	0,410
PAS (percentil)	73,7 ± 23,6	76,0 ± 20,7	0,698	70,9 ± 26,2	64,3 ± 27,2	0,194
PAD (percentil)	64,3 ± 22,9	65,8 ± 21,6	0,732	61,3 ± 19,8	64,2 ± 23,0	0,519
FC	85,5 ± 9,3	87,4 ± 14,7	0,467	76,6 ± 11,8	79,3 ± 12,6	0,310
Leptina (ng/mL)	45,8 ± 28,5	46,5 ± 24,3	0,595	46,9 ± 29,3	44,4 ± 26,8	0,886
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,7 ± 0,9	1,8 ± 0,8	0,448	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,5	0,360
Glicose (mg/dL)	79,1 ± 8,2	82,9 ± 8,3	0,018	79,9 ± 10,4	84,2 ± 11,9	0,064
Insulina (μU/mL)	18,4 ± 10,8	21,8 ± 14,2	0,378	28,5 ± 15,6	28,6 ± 15,9	0,909
HOMA-IR	3,8 ± 2,4	4,26 ± 2,84	0,580	5,7 ± 3,2	6,0 ± 3,9	0,694
Colesterol total (mg/dL)	174,0 ± 29,2	173,9 ± 37,3	0,992	166,9 ± 30,2	159,0 ± 35,6	0,241
LDL-c (mg/dL)	106,5 ± 28,5	105,0 ± 31,9	0,799	102,3 ± 26,1	95,6 ± 30,1	0,245
HDL-c (mg/dL)	46,5 ± 8,6	47,4 ± 11,6	0,821	39,6 ± 9,0	39,3 ± 8,1	0,856
Triglicérides (mg/dL)	113,6 ± 44,4	109,1 ± 61,3	0,278	124,8 ± 44,5	118,9 ± 53,7	0,562
ALT (U/L)	24,9 ± 12,9	25,4 ± 15,9	0,406	28,6 ± 13,0	29,6 ± 16,4	0,868
AST (U/L)	25,5 ± 6,8	24,5 ± 7,3	0,166	24,0 ± 5,4	25,8 ± 9,0	0,410
Ácido úrico (mg/dL)	5,1 ± 0,1	4,99 ± 1,13	0,619	6,7 ± 1,4	6,6 ± 1,3	0,805

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

4.4.2. Avaliação do rs1137100 no gene *LEPR*

Na avaliação da frequência genotípica do rs1137100 (A>G) considerando os fatores de RCM, observou-se no gênero feminino, maior frequência do genótipo AG/GG no grupo com hipertrigliceridemia (OR = 1,926; IC 95% 1,010 – 3,673; p = 0,047) em comparação ao genótipo AA, conforme apresentado na Tabela 4.12.

Tabela 4.12 - Frequência do rs1137100 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos

Fator de RCM		Feminino			Masculino		
		rs1137100		p	rs1137100		p
		AA N (%)	AG/GG N (%)		AA N (%)	AG/GG N (%)	
HAS	-	125 (65,4)	66 (34,6)	0,100	103 (66,5)	52 (33,5)	0,602
	+	38 (90,5)	4 (9,5)		32 (62,7)	19 (37,3)	
GJA	-	169 (71,3)	68 (28,7)	0,577	136 (65,4)	72 (34,6)	0,986
	+	5 (62,5)	3 (37,5)		6 (66,7)	3 (33,3)	
HDL-c baixo	-	74 (72,5)	28 (27,5)	0,674	62 (69,7)	27 (30,3)	0,246
	+	97 (69,8)	42 (30,2)		81 (62,8)	48 (37,2)	
TG elevado	-	117 (72,7)	44 (27,3)	0,047	88 (65,2)	47 (34,8)	0,561
	+	51 (66,2)	26 (33,8)		55 (67,9)	26 (32,1)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal. Fator de risco cardiometabólico (-) normal ou (+) alterado. HAS - Hipertensão arterial sistêmica. GJA - Glicemia de jejum alterada. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. TG - Triglicérides.

A Tabela 4.13 apresenta a comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas para o rs1137100 no gênero feminino. Não foram observadas diferenças significativas em relação às variáveis analisadas entre as meninas pré-púberes. As meninas púberes portadoras do alelo G apresentaram uma tendência à maior trigliceridemia (p = 0,056), quando comparadas às de genótipo AA.

Tabela 4.13 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137100 no gênero feminino

	rs1137100 (A>G)					
	Pré-púbere			Púbere		
	AA (N= 60)	AG/GG (N= 17)	P	AA (N= 114)	AG/GG (N= 54)	P
Idade (anos)	9,2 ± 1,6	9,5 ± 1,5	0,407	14,2 ± 2,1	14,0 ± 2,2	0,499
ECAP (escore)	18,0 ± 9,2	16,2 ± 6,9	0,889	19,9 ± 8,2	17,9 ± 8,7	0,140
Z-IMC	3,37 ± 0,61	3,26 ± 0,49	0,194	3,12 ± 0,60	3,07 ± 0,52	0,583
Massa gorda (%)	38,4 ± 7,1	38,8 ± 6,1	0,842	42,0 ± 6,3	40,9 ± 5,9	0,189
RCE	0,64 ± 0,07	0,63 ± 0,04	0,555	0,67 ± 0,09	0,65 ± 0,07	0,071
PAS (percentil)	77,4 ± 23,7	69,1 ± 21,3	0,066	73,4 ± 23,9	67,6 ± 23,0	0,099
PAD (percentil)	67,3 ± 24,5	63,4 ± 20,8	0,562	59,8 ± 23,1	57,2 ± 21,9	0,482
FC	87,6 ± 15,0	84,9 ± 9,7	0,508	81,1 ± 13,6	82,3 ± 14,8	0,625
Leptina (ng/mL)	45,2 ± 21,1	41,2 ± 19,1	0,483	65,3 ± 28,1	61,2 ± 32,3	0,267
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	2,1 ± 0,9	1,8 ± 0,7	0,612	1,7 ± 0,6	1,6 ± 0,8	0,351
Glicose (mg/dL)	77,5 ± 11,1	75,1 ± 7,7	0,400	79,8 ± 10,6	80,1 ± 11,6	0,897
Insulina (μU/mL)	22,9 ± 14,8	16,2 ± 10,1	0,131	27,8 ± 16,9	25,3 ± 14,6	0,412
HOMA-IR	4,43 ± 3,08	3,06 ± 2,14	0,105	5,59 ± 3,72	5,15 ± 3,41	0,467
Colesterol total (mg/dL)	167,0 ± 37,7	161,9 ± 29,5	0,431	167,0 ± 33,1	166,8 ± 35,5	0,939
LDL-c (mg/dL)	103,2 ± 33,1	92,4 ± 22,7	0,224	102,4 ± 28,4	101,5 ± 32,9	0,857
HDL-c (mg/dL)	43,8 ± 8,0	43,9 ± 8,8	0,941	44,2 ± 9,9	43,4 ± 8,0	0,724
Triglicérides (mg/dL)	112,7 ± 44,4	132,6 ± 68,7	0,283	98,6 ± 42,0	109,1 ± 39,1	0,056
ALT (U/L)	21,3 ± 8,2	20,0 ± 7,8	0,403	20,9 ± 12,8	20,8 ± 13,7	0,975
AST (U/L)	23,8 ± 5,4	23,1 ± 3,8	0,702	21,5 ± 12,7	20,5 ± 6,6	0,930
Ácido úrico (mg/dL)	5,1 ± 1,1	4,5 ± 0,9	0,059	5,4 ± 1,1	5,3 ± 1,3	0,696

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

Não foram observadas diferenças na comparação entre os parâmetros no gênero masculino, como apresentado na Tabela 4.14.

Tabela 4.14 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137100 no gênero masculino

	rs1137100 (A>G)					
	Pré-púbere			Púbere		
	AA (N= 80)	AG/GG (N= 39)	P	AA (N= 65)	AG/GG (N= 36)	P
Idade (anos)	10,6 ± 1,8	10,6 ± 2,0	0,873	14,7 ± 2,1	14,1 ± 2,3	0,191
ECAP (escore)	15,8 ± 8,4	17,6 ± 9,0	0,305	15,5 ± 7,4	14,7 ± 8,2	0,593
Z-IMC	3,44 ± 0,72	3,39 ± 0,67	0,685	3,32 ± 0,59	3,35 ± 0,54	0,802
Massa gorda (%)	38,6 ± 7,7	37,3 ± 7,1	0,375	38,0 ± 5,9	37,3 ± 4,9	0,536
RCE	0,66 ± 0,07	0,65 ± 0,08	0,810	0,67 ± 0,08	0,67 ± 0,09	0,968
PAS (percentil)	75,0 ± 22,0	75,4 ± 21,5	0,958	64,7 ± 29,1	71,9 ± 22,1	0,312
PAD (percentil)	63,6 ± 22,9	68,6 ± 20,0	0,266	61,9 ± 22,3	64,4 ± 20,2	0,604
FC	87,0 ± 13,4	86,1 ± 12,2	0,743	77,6 ± 13,4	79,0 ± 9,8	0,624
Leptina (ng/mL)	44,7 ± 25,2	48,8 ± 30,3	0,565	48,4 ± 28,3	40,6 ± 26,6	0,111
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,7 ± 0,9	1,9 ± 1,0	0,219	1,1 ± 0,5	1,0 ± 0,5	0,242
Glicose (mg/dL)	79,7 ± 7,8	81,9 ± 9,6	0,167	83,7 ± 11,7	79,8 ± 10,6	0,102
Insulina (μU/mL)	21,6 ± 13,3	18,3 ± 12,6	0,128	27,2 ± 17,1	30,7 ± 13,0	0,119
HOMA-IR	4,3 ± 2,7	3,7 ± 2,5	0,187	5,7 ± 4,0	6,0 ± 2,7	0,253
Colesterol total (mg/dL)	174,1 ± 37,8	173,7 ± 27,1	0,947	161,1 ± 31,1	165,1 ± 37,3	0,564
LDL-c (mg/dL)	104,7 ± 31,9	107,3 ± 28,1	0,659	98,6 ± 26,2	98,7 ± 32,4	0,979
HDL-c (mg/dL)	46,6 ± 10,5	48,0 ± 11,0	0,514	39,2 ± 7,6	39,8 ± 10,1	0,737
Triglicérides (mg/dL)	115,4 ± 58,8	101,2 ± 48,3	0,151	118,3 ± 47,3	128,0 ± 53,6	0,356
ALT (U/L)	25,5 ± 15,9	24,7 ± 12,8	0,837	27,6 ± 13,2	31,9 ± 17,3	0,226
AST (U/L)	25,2 ± 7,3	24,0 ± 6,9	0,295	24,2 ± 7,2	26,5 ± 8,3	0,144
Ácido úrico (mg/dL)	5,0 ± 1,1	5,1 ± 1,0	0,694	6,8 ± 1,4	6,4 ± 1,2	0,211

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

4.4.3. Avaliação do rs1137101 no gene *LEPR*

Na avaliação do rs1137101 (A>G) e os fatores de RCM, observou-se uma maior frequência do genótipo AG/GG no grupo com hipertrigliceridemia (OR = 2,039; IC 95% 1,057 – 3,931; p = 0,033) em relação ao genótipo AA, encontrada somente no gênero feminino (Tabela 4.15).

Tabela 4.15 - Frequência do rs1137101 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos

Fator de RCM		Feminino			Masculino		
		rs1137101		P	rs1137101		P
		AA N (%)	AG/GG N (%)		AA N (%)	AG/GG N (%)	
HAS	-	63 (33,0)	128 (67,0)	0,817	43 (27,7)	112 (72,3)	0,893
	+	14 (33,3)	28 (66,7)		13 (25,5)	38 (74,5)	
GJA	-	79 (33,3)	158 (66,7)	0,836	57 (27,4)	151 (72,6)	0,684
	+	3 (37,5)	5 (62,5)		3 (33,3)	6 (66,7)	
HDL-c baixo	-	38 (37,3)	64 (62,7)	0,259	25 (28,1)	64 (71,9)	0,706
	+	42 (30,2)	97 (69,8)		36 (27,9)	93 (72,1)	
TG elevado	-	61 (37,9)	100 (62,1)	0,033	32 (23,7)	103 (76,3)	0,084
	+	19 (24,7)	58 (75,3)		29 (35,8)	52 (64,2)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal. Fator de risco cardiometabólico (-) normal ou (+) alterado. HAS - Hipertensão arterial sistêmica. GJA - Glicemia de jejum alterada. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. TG - Triglicérides.

A comparação de variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas entre os genótipos do rs1137101, não demonstrou haver diferenças entre as meninas pré-púberes e púberes, como apresentado na Tabela 4.16.

Tabela 4.16 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137101 no gênero feminino

	rs1137101 (A>G)					
	Pré-púbere			Púbere		
	AA (N= 24)	AG/GG (N= 53)	P	AA (N= 58)	AG/GG (N= 110)	P
Idade (anos)	9,1 ± 1,6	9,3 ± 1,6	0,597	14,3 ± 2,2	14,1 ± 2,2	0,530
ECAP (escore)	18,6 ± 8,7	17,1 ± 8,8	0,352	20,4 ± 7,8	18,7 ± 8,7	0,212
Z-IMC	3,34 ± 0,97	3,29 ± 0,66	0,830	3,13 ± 0,62	3,09 ± 0,56	0,702
Massa gorda (%)	38,2 ± 6,7	38,7 ± 7,0	0,759	41,9 ± 6,3	41,5 ± 6,2	0,414
RCE	0,64 ± 0,08	0,64 ± 0,05	0,942	0,67 ± 0,09	0,66 ± 0,08	0,572
PAS (percentil)	76,6 ± 23,3	74,9 ± 23,4	0,925	74,6 ± 22,7	69,9 ± 24,2	0,222
PAD (percentil)	61,0 ± 26,6	68,6 ± 22,2	0,216	60,2 ± 21,8	58,2 ± 23,2	0,610
FC	89,2 ± 17,5	86,0 ± 12,1	0,433	81,4 ± 12,4	81,5 ± 14,8	0,945
Leptina (ng/mL)	44,4 ± 17,6	44,3 ± 22,0	0,991	66,7 ± 27,1	62,6 ± 30,7	0,360
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	2,1 ± 0,8	2,0 ± 0,9	0,704	1,8 ± 0,6	1,6 ± 0,7	0,115
Glicose (mg/dL)	77,3 ± 9,9	76,8 ± 10,7	0,829	80,2 ± 12,0	79,7 ± 10,3	0,846
Insulina (μU/mL)	19,4 ± 10,5	22,2 ± 15,4	0,936	26,1 ± 16,4	27,5 ± 16,1	0,486
HOMA-IR	3,7 ± 2,2	4,3 ± 3,2	0,903	5,3 ± 3,9	5,5 ± 3,5	0,482
Colesterol total (mg/dL)	167,1 ± 42,1	168,0 ± 33,4	0,915	168,9 ± 38,0	165,9 ± 31,6	0,732
LDL-c (mg/dL)	101,9 ± 35,7	99,6 ± 29,5	0,593	105,5 ± 34,2	100,4 ± 27,4	0,303
HDL-c (mg/dL)	44,0 ± 10,0	43,7 ± 7,2	0,911	44,0 ± 8,9	43,9 ± 9,5	0,860
Triglicérides (mg/dL)	107,2 ± 37,3	121,7 ± 55,8	0,346	93,4 ± 34,5	106,6 ± 43,9	0,078
ALT (U/L)	21,4 ± 6,8	20,8 ± 8,6	0,390	22,2 ± 11,2	20,2 ± 10,3	0,736
AST (U/L)	24,4 ± 5,9	23,3 ± 4,7	0,490	22,1 ± 10,7	20,6 ± 6,4	0,530
Ácido úrico (mg/dL)	5,2 ± 1,1	4,8 ± 1,0	0,168	5,2 ± 1,0	5,5 ± 1,2	0,159

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

A comparação no gênero masculino não revelou diferenças dos parâmetros entre os genótipos do rs1137101 (Tabela 4.17).

Tabela 4.17 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs1137101 no gênero masculino

	rs1137101 (A>G)					
	Pré-púbere			Púbere		
	AA (N= 27)	AG/GG (N= 92)	P	AA (N= 35)	AG/GG (N= 66)	P
Idade (anos)	10,4 ± 1,9	10,7 ± 1,9	0,570	14,2 ± 2,3	14,6 ± 2,1	0,286
ECAP (escore)	15,0 ± 8,6	16,8 ± 8,6	0,323	15,6 ± 7,2	15,0 ± 8,0	0,717
Z-IMC	3,45 ± 0,91	3,41 ± 0,63	0,830	3,28 ± 0,60	3,35 ± 0,56	0,536
Massa gorda (%)	37,7 ± 8,0	38,3 ± 7,4	0,699	37,3 ± 5,4	38,0 ± 5,6	0,568
RCE	0,65 ± 0,07	0,66 ± 0,07	0,288	0,66 ± 0,09	0,67 ± 0,88	0,579
PAS (percentil)	70,7 ± 20,5	76,4 ± 22,0	0,134	66,0 ± 29,5	68,0 ± 25,6	0,883
PAD (percentil)	60,9 ± 20,9	66,5 ± 22,2	0,273	64,6 ± 23,0	61,9 ± 20,8	0,592
FC	83,3 ± 11,6	87,6 ± 13,2	0,154	80,6 ± 15,8	76,7 ± 9,8	0,221
Leptina (ng/mL)	44,5 ± 28,2	46,5 ± 26,8	0,651	47,5 ± 26,7	44,5 ± 28,5	0,543
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,8 ± 0,9	1,8 ± 0,9	0,720	1,2 ± 0,5	1,0 ± 0,5	0,129
Glicose (mg/dL)	78,6 ± 7,0	81,0 ± 8,8	0,195	83,2 ± 13,9	81,8 ± 10,0	0,561
Insulina (μU/mL)	24,2 ± 16,7	19,4 ± 11,8	0,407	27,1 ± 18,7	29,3 ± 14,1	0,345
HOMA-IR	4,8 ± 3,3	3,9 ± 2,4	0,427	5,7 ± 4,5	5,9 ± 3,1	0,490
Colesterol total (mg/dL)	175,6 ± 34,2	173,5 ± 34,9	0,786	161,8 ± 27,8	162,9 ± 36,1	0,875
LDL-c (mg/dL)	105,5 ± 33,4	105,6 ± 29,9	0,989	99,8 ± 22,8	98,0 ± 31,1	0,769
HDL-c (mg/dL)	46,6 ± 9,7	47,2 ± 10,9	0,846	39,1 ± 7,4	39,6 ± 9,1	0,781
Triglicérides (mg/dL)	121,6 ± 57,1	107,5 ± 55,2	0,139	115,5 ± 40,5	124,9 ± 53,7	0,374
ALT (U/L)	25,6 ± 15,4	25,1 ± 14,8	0,773	26,6 ± 10,9	30,4 ± 16,5	0,324
AST (U/L)	25,3 ± 7,9	24,7 ± 7,0	0,730	24,4 ± 7,1	25,3 ± 8,0	0,651
Ácido úrico (mg/dL)	4,8 ± 1,0	5,1 ± 1,1	0,197	6,7 ± 1,4	6,6 ± 1,3	0,939

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

4.4.4. Avaliação do rs8179183 no gene *LEPR*

Ao investigar a associação do rs8179183 (G>C) com cada fator de RCM, não foi observada a existência de diferenças em relação às frequências genotípicas do polimorfismo, conforme demonstrado na Tabela 4.18.

Tabela 4.18 - Frequência do rs8179183 quanto aos fatores de risco cardiometabólicos

Fator de RCM		Feminino			Masculino		
		rs8179183			rs8179183		
		GG	GC/CC	p	GG	GC/CC	p
		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
HAS	-	127 (66,5)	64 (33,5)	0,363	103 (66,5)	52 (33,5)	0,501
	+	24 (57,1)	18 (42,9)		36 (70,6)	15 (29,4)	
GJA	-	150 (63,3)	87 (36,7)	0,183	140 (67,3)	68 (32,7)	0,354
	+	7 (87,5)	1 (12,5)		5 (55,6)	4 (44,4)	
HDL-c baixo	-	62 (60,8)	40 (39,2)	0,465	58 (62,2)	31 (34,8)	0,818
	+	91 (65,5)	48 (34,5)		87 (67,4)	42 (32,6)	
TG elevado	-	100 (62,1)	61 (37,9)	0,346	96 (71,1)	39 (28,9)	0,075
	+	50 (64,9)	27 (35,1)		48 (59,3)	33 (40,7)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal. Fator de risco cardiometabólico (-) normal ou (+) alterado. HAS - Hipertensão arterial sistêmica. GJA - Glicemia de jejum alterada. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. TG - Triglicérides

A comparação do rs8179183 no gênero feminino, demonstrou que meninas pré-púberes de genótipo GC/CC apresentaram maior glicemia ($79,2 \pm 10,0$ vs. $73,6 \pm 10,3$ mg/dL; $p = 0,021$) em comparação às de genótipo GG. Paralelamente, a presença do alelo C, relacionou-se à maior RCE ($0,67 \pm 0,09$ vs. $0,66 \pm 0,08$; $p = 0,031$) em meninas púberes (Tabela 4.19).

Tabela 4.19 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs8179183 no gênero feminino

	rs8179183 (G>C)					
	Pré-púbere			Púbere		
	GG (N= 46)	GC/CC (N= 31)	P	GG (N= 111)	GC/CC (N= 57)	P
Idade (anos)	9,4 ± 1,6	9,0 ± 1,6	0,208	14,0 ± 2,2	14,4 ± 2,1	0,225
ECAP (escore)	17,7 ± 8,8	17,4 ± 8,7	0,963	18,9 ± 8,3	20,0 ± 8,7	0,395
Z-IMC	3,25 ± 0,63	3,39 ± 0,93	0,823	3,09 ± 0,56	3,13 ± 0,62	0,678
Massa gorda (%)	38,9 ± 7,0	37,9 ± 6,7	0,538	41,5 ± 6,4	42,0 ± 5,8	0,392
RCE	0,63 ± 0,05	0,66 ± 0,08	0,097	0,65 ± 0,08	0,68 ± 0,09	0,031
PAS (percentil)	74,9 ± 24,4	76,3 ± 21,7	0,836	70,2 ± 23,9	74,1 ± 23,3	0,232
PAD (percentil)	65,8 ± 24,2	67,3 ± 23,1	0,791	58,0 ± 22,8	60,8 ± 22,5	0,517
FC	88,1 ± 13,6	85,3 ± 14,7	0,410	81,5 ± 13,8	81,4 ± 14,5	0,924
Leptina (ng/mL)	45,4 ± 23,5	42,8 ± 15,7	0,597	62,2 ± 29,5	67,3 ± 29,4	0,263
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	2,0 ± 0,9	2,1 ± 0,9	0,869	1,7 ± 0,7	1,7 ± 0,6	0,872
Glicose (mg/dL)	73,6 ± 10,3	79,2 ± 10,0	0,021	80,1 ± 11,2	79,4 ± 10,3	0,652
Insulina (μU/mL)	19,8 ± 11,7	22,5 ± 15,5	0,658	26,4 ± 14,7	28,2 ± 18,7	0,963
HOMA-IR	3,5 ± 1,9	4,6 ± 3,4	0,361	5,3 ± 3,4	5,7 ± 4,0	0,936
Colesterol total (mg/dL)	166,8 ± 36,3	170,5 ± 36,3	0,670	166,8 ± 33,7	167,1 ± 34,3	0,932
LDL-c (mg/dL)	99,1 ± 31,8	103,5 ± 31,1	0,553	102,3 ± 30,9	101,7 ± 28,0	0,905
HDL-c (mg/dL)	43,1 ± 7,8	44,8 ± 8,6	0,361	43,3 ± 9,0	45,1 ± 9,7	0,267
Triglicérides (mg/dL)	112,8 ± 61,3	120,0 ± 42,1	0,290	104,3 ± 39,5	97,9 ± 44,5	0,175
ALT (U/L)	20,8 ± 7,7	21,3 ± 8,7	0,751	21,2 ± 13,6	20,3 ± 12,0	0,550
AST (U/L)	22,9 ± 4,6	24,7 ± 5,6	0,104	21,5 ± 12,7	20,6 ± 7,1	0,862
Ácido úrico (mg/dL)	4,8 ± 1,1	5,1 ± 1,0	0,317	5,3 ± 1,0	5,5 ± 1,3	0,231

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

A presença do alelo C do rs8179183, relacionou-se ao maior percentil de PAD ($71,1 \pm 19,3$ vs. $62,2 \pm 22,8$; $p = 0,012$) em meninos pré-púberes e à maior glicemia ($86,7 \pm 12,0$ vs. $80,5 \pm 10,7$ mg/dL; $p = 0,014$), colesterol total ($173,8 \pm 29,1$ vs. $157,9 \pm 29,1$ mg/dL; $p = 0,030$), LDL-c ($108,5 \pm 25,0$ vs. $94,6 \pm 28,9$ mg/dL; $p = 0,025$) e à tendência ao nível de triglicérides mais elevado ($p = 0,055$) em meninos púberes (Tabela 4.20).

Tabela 4.20 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto ao rs8179183 no gênero masculino

	rs8179183 (G>C)					
	Pré-púbere			Púbere		
	GG (N= 75)	GC/CC (N= 44)	P	GG (N= 71)	GC/CC (N= 30)	P
Idade (anos)	10,5 ± 1,9	10,8 ± 1,8	0,435	14,7 ± 2,1	14,0 ± 2,3	0,189
ECAP (escore)	17,2 ± 8,6	15,0 ± 8,4	0,187	14,9 ± 7,9	16,1 ± 7,2	0,472
Z-IMC	3,37 ± 0,72	3,51 ± 0,66	0,316	3,26 ± 0,61	3,38 ± 0,54	0,958
Massa gorda (%)	37,6 ± 6,6	39,2 ± 8,8	0,303	37,6 ± 5,8	38,0 ± 4,9	0,733
RCE	0,64 ± 0,07	0,67 ± 0,07	0,083	0,66 ± 0,09	0,68 ± 0,08	0,300
PAS (percentil)	75,2 ± 20,9	75,0 ± 23,6	0,737	67,0 ± 28,1	68,1 ± 24,2	0,835
PAD (percentil)	62,2 ± 22,8	71,1 ± 19,3	0,012	64,0 ± 22,4	60,1 ± 19,4	0,422
FC	86,2 ± 13,7	87,5 ± 11,6	0,616	77,7 ± 12,2	78,9 ± 12,6	0,683
Leptina (ng/mL)	45,2 ± 27,8	47,7 ± 25,6	0,394	45,0 ± 29,0	46,8 ± 25,0	0,640
Leptina ajustada (ng/mL/kg)	1,8 ± 0,9	1,8 ± 0,9	0,946	1,1 ± 0,5	1,2 ± 0,5	0,263
Glicose (mg/dL)	80,6 ± 8,8	80,0 ± 8,0	0,716	80,5 ± 10,7	86,7 ± 12,0	0,014
Insulina (μU/mL)	19,2 ± 12,7	22,9 ± 13,7	0,243	27,7 ± 14,4	30,5 ± 18,6	0,617
HOMA-IR	3,8 ± 2,5	4,6 ± 2,9	0,293	5,5 ± 2,9	6,9 ± 4,8	0,231
Colesterol total (mg/dL)	174,6 ± 32,7	172,8 ± 37,9	0,783	157,9 ± 34,1	173,8 ± 29,1	0,030
LDL-c (mg/dL)	106,9 ± 29,8	103,4 ± 32,1	0,552	94,6 ± 28,9	108,5 ± 25,0	0,025
HDL-c (mg/dL)	47,6 ± 11,1	46,2 ± 9,8	0,548	39,7 ± 9,3	38,9 ± 6,4	0,661
Triglicérides (mg/dL)	107,0 ± 51,1	117,0 ± 62,9	0,433	115,6 ± 44,3	136,8 ± 58,8	0,055
ALT (U/L)	24,4 ± 13,6	26,5 ± 16,9	0,493	29,8 ± 16,3	27,5 ± 10,6	0,862
AST (U/L)	24,7 ± 7,7	25,0 ± 6,3	0,408	24,6 ± 7,1	26,1 ± 8,9	0,451
Ácido úrico (mg/dL)	5,0 ± 1,1	5,1 ± 1,0	0,539	6,6 ± 1,3	6,8 ± 1,6	0,588

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. ECAP - Escala de compulsão alimentar periódica. Z-IMC - Escore Z de IMC. RCE - Razão cintura-estatura. PAS - Pressão arterial sistólica. PAD - Pressão arterial diastólica. FC - Frequência cardíaca. LDL-c - Lipoproteína de baixa densidade. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade. ALT - Alanina aminotransferase. AST - Aspartato aminotransferase.

4.5. Análise do desequilíbrio de ligação

As frequências genotípicas dos polimorfismos no grupo controle encontravam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foi conduzida a análise de desequilíbrio de ligação entre todos os polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* e os valores obtidos de D' e R^2 para o grupo de crianças e adolescentes obesos e controle são apresentados na tabela 4.21.

Tabela 4.21 - Análise do desequilíbrio de ligação nos genes *LEP* e *LEPR*

		Obesos			Controle		
		D'	R^2	p	D'	R^2	p
<i>LEPR</i>	<i>LEPR</i>						
rs1137100	rs1137101	0,927	0,2385	<0,001	0,904	0,2482	<0,001
rs1137101	rs8179183	0,556	0,0614	<0,001	0,744	0,0956	<0,001
rs8179183	rs1137100	1,000	0,0551	<0,001	0,709	0,0263	0,059
<i>LEP</i>	<i>LEPR</i>						
rs7799039	rs1137100	-0,063	0,0016	0,390	-0,042	0,0012	0,689
rs7799039	rs1137101	-0,025	0,0004	0,663	-0,168	0,0122	0,199
rs7799039	rs8179183	0,035	0,0006	0,597	-0,274	0,0055	0,390

No gene *LEPR*, foi verificado o desequilíbrio de ligação existente entre todos os SNPs analisados para este gene (rs1137100, rs1137101 e rs8179183) no grupo de crianças e adolescentes obesos, conforme ilustrado na Figura 4.4. Em relação ao grupo controle, constatou-se o desequilíbrio de ligação entre o rs1137100 e rs1137101, rs1137101 e rs8179183, porém marginalmente significativo entre os SNPs rs8179183 e rs1137100.

Figura 4.4 - Desequilíbrio de ligação entre os SNPs no gene *LEPR* no grupo de crianças e adolescentes obesos.

4.5.1. Frequência estimada dos diplótipos no gene *LEPR*

A fase gamética dos haplótipos foi estimada para os polimorfismos no gene *LEPR*. No grupo de crianças e adolescentes obesos e controle, foram reconstruídos 16 diferentes diplótipos – genótipos de haplótipos – gerados, respectivamente, a partir das variantes alélicas dos SNPs rs1137100, rs1137101 e rs8179183 no gene *LEPR*, conforme apresentado na Tabela 4.22.

No grupo de obesos, foi observada maior frequência e predomínio, em ordem decrescente, dos diplótipos 7 (AAG/AGG; 18,7%), 6 (AAG/AAG; 15,1%), 9 (AAG/GGG; 14,4%), 2 (AAC/AAG; 11,2%), 4 (AAC/AGG; 10,1%), 13 (AGG/AGG; 5,8%) e 14 (AGG/GGG; 5,6%). Não houve caso observado dos diplótipos 11

(AGC/AGG) e 16 (GAC/GGG). Para a condução das análises envolvendo os diplótipos, em decorrência do baixo número de casos, foram agrupados em um único grupo, denominado como “raros”, os diplótipos que apresentaram frequência inferior a 5%, identificados como: 1, 3, 5, 8, 10, 12 e 15, sendo mantidos os demais diplótipos. No grupo controle, o mesmo procedimento foi adotado, sendo agrupados num único grupo os diplótipos menos frequentes.

Tabela 4.22 - Identificação e frequência dos diplótipos no gene *LEPR*

Identificação	Diplótipo	Obesos	Controle
		N (%)	N (%)
1	AAC/AAC	17 (3,7)	4 (3,0)
2	AAC/AAG	52 (11,2)	11 (8,1)
3	AAC/AGC	8 (1,7)	1 (0,7)
4	AAC/AGG	47 (10,1)	12 (8,9)
5	AAC/GGG	23 (4,9)	9 (6,6)
6	AAG/AAG	70 (15,0)	17 (12,5)
7	AAG/AGG	87 (18,7)	32 (23,5)
8	AAG/GAG	5 (1,1)	1 (0,7)
9	AAG/GGG	67 (14,4)	24 (17,8)
10	AGC/AGG	11 (2,4)	1 (0,7)
11	AGC/AAG	0 (0,0)	0 (0,0)
12	AGC/GGG	4 (0,9)	1 (0,7)
13	AAG/AGG	27 (5,8)	9 (6,6)
14	AGG/GGG	26 (5,6)	5 (3,7)
15	GGG/ GGG	21 (4,5)	7 (5,1)
16	GAC/GGG	0 (0,0)	1 (0,7)

4.5.2. Avaliação dos diplótipos no gene *LEPR* em crianças e adolescentes obesos

Para investigar a influência dos diplótipos no gene *LEPR* sobre a CAP, realizou-se a observação da frequência dos mesmos com relação à presença ou ausência da CAP entre as crianças e adolescentes obesos. A frequência do diplótipo 13 (AAG/AGG), entre os meninos, apresentou-se mais elevada no grupo com CAP, entretanto, a diferença foi marginalmente significativa ($p = 0,054$) e foi baixo o número de casos classificados com CAP. Para os demais diplótipos não foram visualizadas diferenças em ambos os gêneros, conforme demonstrado na Tabela 4.23.

Tabela 4.23 - Frequências dos diplótipos no gene *LEPR* quanto à compulsão alimentar periódica

		Feminino		Masculino		p	
		CAP		CAP			
		Ausente	Presente	Ausente	Presente		
Diplótipo		N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
2	Outros	96 (87,3)	120 (88,9)	0,898	120 (90,2)	77 (88,5)	0,558
	AAC/AAG	14 (12,7)	15 (11,1)		13 (9,8)	10 (11,5)	
4	Outros	99 (90,0)	119 (88,1)	0,891	119 (89,5)	81 (93,1)	0,295
	AAC/AGG	11 (10,0)	35 (11,9)		14 (10,5)	6 (6,9)	
6	Outros	95 (86,4)	111 (82,2)	0,409	113 (85,0)	76 (87,4)	0,684
	AAG/AAG	15 (13,6)	24 (17,8)		20 (15,0)	11 (12,6)	
7	Outros	83 (75,5)	113 (83,7)	0,146	108 (81,2)	74 (85,1)	0,481
	AAG/AGG	27 (24,5)	22 (16,3)		25 (18,8)	13 (14,9)	
9	Outros	91 (82,7)	120 (88,9)	0,117	112 (84,2)	75 (86,2)	0,666
	AAG/GGG	19 (17,3)	15 (11,1)		21 (15,8)	12 (13,8)	
13	Outros	104 (94,5)	127 (94,1)	0,764	129 (97,0)	78 (89,7)	0,052
	AAG/AGG	6 (5,5)	8 (5,9)		4 (3,0)	9 (10,3)	
14	Outros	105 (95,5)	126 (93,3)	0,403	124 (93,2)	84 (96,6)	0,324
	AGG/GGG	5 (4,5)	9 (6,7)		9 (6,8)	3 (3,4)	
	Outros	97 (88,2)	109 (80,7)	0,126	106 (79,7)	64 (73,6)	0,311
	Raros	13 (11,8)	26 (19,3)		27 (20,3)	23 (26,4)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade, Z-IMC e estágio puberal.

Procedeu-se com a análise da frequência dos diplótipos no gene *LEPR* em relação aos fatores de RCM. Observou-se no gênero feminino, menor frequência do diplótipo 2 (AAC/AAG) no grupo com hipertrigliceridemia (OR= 0,506; IC 95% 0,283– 0,903; $p = 0,021$) após ajuste para a idade, Z-IMC e estágio puberal, sugerindo efeito protetor deste diplótipo. Para os demais diplótipos não foram observadas diferenças entre os fatores de RCM.

As variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas foram avaliadas por meio da comparação de cada diplótipo no gênero feminino e masculino. Optou-se por não executar a análise estratificada por estágio puberal com o objetivo de elevar o poder estatístico dos testes, em decorrência da baixa observação de casos em determinados grupos com o diplótipo.

A Tabela 4.24 apresenta as diferenças estatisticamente significativas encontradas na comparação entre os diplótipos. Verificou-se que as meninas com o diplótipo 2 (AAC/AAG) apresentaram menor nível de triglicérides ($84,7 \pm 31,6$ vs. $109,8 \pm 45,6$ mg/dL; $p = 0,002$) em comparação às meninas de outros genótipos e, em meninos, indivíduos com o diplótipo 7 (AAG/AGG) exibiram menor percentil de PAD ($54,7 \pm 24,5$ vs. $66,2 \pm 20,6$; $p = 0,003$).

Paralelamente, o diplótipo 14 (AGG/GGG) associou-se à menor glicemia ($71,6 \pm 7,6$ vs. $79,4 \pm 10,8$ mg/dL; $p = 0,004$) e HOMA-IR ($3,7 \pm 2,8$ vs. $5,1 \pm 3,5$; $p = 0,045$) em meninas, sugerindo efeito protetor conferido pelo diplótipos 2, 7 e 14. No gênero feminino, observou-se que as meninas com o diplótipo 9 (AAG/GGG) apresentaram nível de triglicérides mais elevado ($120,8 \pm 45,6$ vs. $104,4 \pm 44,4$ mg/dL; $p = 0,042$), concomitantemente à tendência ao HDL-c mais baixo ($p = 0,067$) quando comparadas aos demais genótipos, denotando um possível risco exercido pelo diplótipo 9. Não foram observadas diferenças dos parâmetros entre os demais diplótipos.

Tabela 4.24 - Comparação entre variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas quanto aos diplótipos no gene *LEPR*

	Diplótipo		p
	2 AAC/AAG (N= 29)	Outros (N= 216)	
Triglicérides (mg/dL)^a	84,7 ± 31,6	109,8 ± 45,6	0,002
	7 AAG/AGG (N= 38)	Outros (N= 182)	p
	9 AAG/GGG (N= 34)	Outros (N= 211)	
PAD (percentil)^b	54,7 ± 24,5	66,2 ± 20,6	0,003
Triglicérides (mg/dL)^a	120,8 ± 45,6	104,4 ± 44,4	0,042
HDL-c (mg/dL)^a	41,1 ± 6,5	44,4 ± 9,2	0,067
	14 AGG/GGG (N= 14)	Outros (N= 231)	p
Glicose (mg/dL)^a	71,6 ± 7,6	79,4 ± 10,8	0,004
HOMA-IR^a	3,7 ± 2,8	5,1 ± 3,5	0,045

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Teste t de Student e Mann Whitney-U. Diferença observada no gênero (a) feminino e (b) masculino. PAD - Pressão arterial diastólica. HDL-c - Lipoproteína de alta densidade.

4.6. Avaliação dos polimorfismos quanto à obesidade

Foi realizada a avaliação da frequência dos polimorfismos comparando-se o grupo de crianças e adolescentes obesos e controle, sendo observada maior frequência do genótipo GA/AA do rs7799039 no grupo de indivíduos obesos (OR = 1,530; IC 95% 1,022 – 2,292; $p = 0,039$) sugerindo um possível risco conferido pelo polimorfismo no gene *LEP* para a obesidade, conforme apresentado na Tabela 4.25.

Tabela 4.25 - Frequências dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* quanto à obesidade

SNP		Obesos	Controle	OR	IC 95%	p
		N (%)	N (%)			
rs7799039 (G>A)	GG	198 (42,6)	70 (51,9)	1,530	1,022 – 2,292	0,039
	GA/AA	267 (57,4)	65 (48,1)			
rs1137100 (A>G)	AA	319 (68,6)	87 (64,4)	0,784	0,513 – 1,197	0,260
	AG/GG	146 (31,4)	48 (35,6)			
rs1137101 (A>G)	AA	144 (31,0)	33 (24,4)	0,743	0,469 – 1,177	0,206
	AG/GG	321 (69,0)	102 (75,6)			
rs8179183 (G>C)	GG	303 (65,2)	95 (70,4)	1,363	0,882 – 2,108	0,164
	GC/CC	162 (34,8)	40 (29,6)			

NOTA: Regressão logística ajustada para idade e gênero.

Na avaliação dos diplótipos no gene *LEPR* no grupo de crianças e adolescentes obesos e controle, foram comparadas as frequências dos diplótipos que apresentaram frequência superior a 5% em ambos os grupos. Não foram observadas diferenças entre os diplótipos após ajuste para idade e gênero, conforme apresentado na Tabela 4.26.

Tabela 4.26 - Frequências dos diplótipos no gene *LEPR* quanto à obesidade

	Diplótipo	Obesos	Controle	p
		N (%)	N (%)	
2	Outros AAC/AAG	413 (88,8)	124 (91,9)	0,342
		52 (11,2)	11 (8,1)	
4	Outros AGG/AGG	418 (89,9)	123 (91,1)	0,528
		47 (10,1)	12 (8,9)	
6	Outros AAG/AAG	395 (84,9)	118 (87,4)	0,732
		70 (15,1)	17 (12,6)	
7	Outros AAG/AGG	378 (81,3)	103 (76,3)	0,232
		87 (18,7)	32 (23,7)	
9	Outros AAG/GGG	398 (85,6)	111 (82,2)	0,324
		67 (14,4)	24 (17,8)	
13	Outros AGG/AGG	438 (94,2)	126 (93,3)	0,981
		27 (5,8)	9 (6,7)	

NOTA: Regressão logística ajustada para idade e gênero.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como finalidade investigar a associação entre polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR*, envolvidos na regulação da homeostase energética com a compulsão alimentar periódica, parâmetros cardiometabólicos e adiposidade em crianças e adolescentes.

Foi observada média de Z-IMC de $3,27 \pm 0,65$ no grupo de crianças e adolescentes obesos, denotando um grau de obesidade bastante significativo. Em consideração aos fatores de risco cardiometabólicos, a glicemia de jejum alterada foi documentada em somente 3,7% da amostra, consistindo essa uma alteração menos comumente observada, mesmo em crianças com excesso de peso (130). A intolerância à glicose é frequentemente precedida pela hiperinsulinemia, uma condição fisiopatológica caracterizada pela maior secreção de insulina como mecanismo compensatório decorrente da resistência à ação da insulina. A glicemia em níveis normais é sustentada durante determinado tempo até que ocorre o declínio na secreção de insulina pelas células β pancreáticas, conduzindo então ao DM2 (131).

Em relação aos parâmetros lipídicos, o HDL-c baixo e a hipertrigliceridemia foram verificados em, respectivamente, 58,4% e 34,8% da população. Está bem estabelecido que o excesso de peso exerce um efeito de risco para a dislipidemia, causando a alteração desfavorável das subfrações dos lípidos e o aumento da concentração de partículas pró-aterogênicas (116, 132).

A hipertensão arterial sistêmica, por sua vez, foi verificada em 21,2% da amostra, sendo a avaliação deste parâmetro realizada em medidas isoladas da pressão arterial e considerando percentis de pressão arterial superiores a 95. A prevalência da HAS na infância e adolescência apresenta ampla variabilidade entre os estudos, fato que pode ser atribuído especialmente pela metodologia adotada para verificação da pressão arterial, sendo observadas prevalências inferiores quando o diagnóstico é estabelecido após três medidas em ocasiões diferentes, como preconizado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (117).

Na comparação entre crianças e adolescentes com obesidade e o grupo controle, a idade diferiu entre os grupos, sendo superior nos obesos ($12,5 \pm 2,9$ vs. $10,6 \pm 1,3$ anos; $p < 0,001$). Conforme esperado, o grupo com obesidade exibiu Z-IMC ($3,27 \pm 0,65$ vs. $-0,18 \pm 0,72$; $p < 0,001$) e percentil de estatura ($69,5 \pm 28,0$ vs. $50,8 \pm 27,6$; $p < 0,001$) mais elevados. Adolescentes com obesidade tendem a apresentar a idade óssea mais avançada e maior estatura em relação a seus pares magros, muito embora, a observação da estatura final em obesos não se mostra superior (133).

As meninas apresentaram maior percentual de massa gorda ($40,7 \pm 6,6$ vs. $38,0 \pm 6,7$; $p < 0,001$), leptina ($57,7 \pm 28,4$ vs. $45,8 \pm 27,3$ ng/mL; $p < 0,001$), assim como da leptina ajustada à quantidade de massa gorda ($1,87 \pm 0,76$ vs. $1,46 \pm 0,84$ ng/mL/kg; $p < 0,001$) quando comparadas aos meninos. A diferença da leptina é um achado esperado em virtude do dimorfismo sexual em relação à adiposidade e o tipo de distribuição de gordura corporal. Em um estudo transversal com 789 crianças de ambos os gêneros e idade entre 5 e 15 anos, as meninas apresentaram concentrações de leptina mais elevadas do que os meninos em todos os grupos de idade (134).

Níveis séricos de leptina mais elevados são observados mesmo após ajuste para a quantidade de massa gorda, corroborando para a existência do dimorfismo sexual sobre este parâmetro (135). Em estudo foi observado maior nível de leptina em mulheres em qualquer nível de adiposidade quando comparadas a homens, descrevendo que fatores como a adiposidade, gênero e insulinemia foram determinantes significativos da concentração de leptina, explicando 42%, 28% e 2% de sua variância, respectivamente. Os autores evidenciam que o gênero constitui-se de um dos principais determinantes da concentração plasmática de leptina e propõem que o dimorfismo sexual também poderia estar implicado com a resistência às ações da leptina em mulheres – como no transporte de leptina para o fluido cerebrospinal – que acarretariam no aumento compensatório de produção de leptina (136, 137).

5.1. Compulsão alimentar periódica

Na avaliação das crianças e adolescentes obesos, observou-se a classificação de CAP moderada e grave em 47,8% da amostra. Em trabalho envolvendo 128 crianças e adolescentes à procura de tratamento para o excesso de peso, a presença da CAP foi observada em 39,1% da população, utilizando-se também a ECAP como instrumento de avaliação (138). Embora muitas vezes não preencham todos os critérios para diagnosticar o TCAP, a compulsão alimentar é comum em jovens, especialmente nos obesos (139). Casos subclínicos do transtorno também podem ocorrer, nos quais o sentimento de falta de controle sobre o ato de comer figura no episódio de CAP na ausência de um consumo exagerado de alimentos (140).

Estudo que avaliou em jovens obesos aspectos relacionados ao TCAP, verificou frequência de episódios de CAP em 36,5% da amostra, sugerindo esta ser uma condição que necessita de especial atenção em programas de tratamento para o excesso de peso (141). Episódios de CAP foram apresentados em, respectivamente, 45,6% e 6,3% de adultos provenientes de programas de controle de peso e amostras comunitárias em estudo multicêntrico (14). Ressalta-se que a variação na prevalência de CAP pelos estudos é atribuída, sobretudo, à diferença nos aspectos envolvidos na compulsão alimentar que são estudados, bem como ao instrumento de avaliação adotado por cada pesquisador.

As crianças e adolescentes com obesidade exibiram maior escore na ECAP em comparação ao grupo controle, em que somente 5,9% dos indivíduos foram classificados com CAP moderada e não houve observação de caso classificado como grave. O grupo de obesos apresentou um risco 3,773 maior (IC 95% 1,129 – 12,613; $p = 0,031$) de apresentar CAP em relação ao grupo controle, após ajuste para idade e Z-IMC. Evidencia-se que a ECAP constitui-se de um instrumento construído especificamente para avaliar a CAP em indivíduos obesos, por meio de uma abordagem dimensional do fenômeno. Propõe-se que o seu uso clínico seja de especial interesse para o rastreamento da CAP e no suporte ao planejamento de estratégias terapêuticas mais adequadas no tratamento do excesso de peso, uma vez que o obeso com CAP apresentam uma evolução clínica diferenciada em comparação a seus pares sem compulsão (120, 142).

Num trabalho realizado com 259 crianças e adolescentes, a restrição alimentar, baixa autoestima e preocupação com o peso foram preditores importantes para a CAP, sendo os jovens com obesidade mais predispostos a estes comportamentos (143). Esse achado corrobora com um estudo conduzido em jovens com excesso de peso que exibiram mais sintomas depressivos e referiram maior perda de controle sobre o ato de comer, elementos diretamente correlacionados à gravidade da CAP (144). A avaliação de aspectos relacionados à compulsão alimentar, sobretudo num grupo específico, composto por crianças e adolescentes com obesidade grave, torna-se especialmente relevante considerando que a infância e a adolescência constituem-se de períodos de vulnerabilidade para o surgimento de transtornos alimentares (145, 146, 147).

Ao investigar o grupo de crianças e adolescentes obesos com CAP, visualizou-se em ambos os gêneros, valor de Z-IMC mais elevado em comparação àqueles sem CAP, denotando um pior grau de adiposidade. A razão entre a medida da circunferência da cintura e a estatura, segundo Ashwell *et al.* (2005), poderia apresentar uma potencial vantagem em relação à medida da circunferência da cintura isolada, uma vez que o seu ajuste pela estatura possibilitaria o estabelecimento de um ponto de corte único e aplicável, independentemente da etnia, idade e gênero (148). Estudos conduzidos em adultos (149, 150) e na população pediátrica (151, 152, 153, 154) sugerem que a RCE está fortemente associada ao maior risco cardiovascular e consiste numa medida antropométrica superior para a avaliação da adiposidade que o IMC (155). Deve ser notado que a circunferência da cintura reflete particularmente o acúmulo de gordura abdominal, tanto visceral quanto subcutâneo, possibilitando a inferência indireta da obesidade central (156). A utilização da RCE poderia, portanto, representar uma medida interessante para avaliação da distribuição de gordura corporal.

As meninas classificadas com CAP exibiram maior média de insulina ($27,2 \pm 16,3$ vs. $23,0 \pm 14,8$ $\mu\text{U/mL}$; $p = 0,040$) e uma tendência ao HOMA-IR mais elevado ($p = 0,065$) em comparação às meninas sem CAP. Estes achados propõem haver uma influência negativa da CAP não somente sobre o Z-IMC, mas também sobre um padrão

de distribuição de gordura mais desfavorável, em virtude do maior valor da RCE, e pior perfil metabólico.

Indivíduos com resistência à insulina, tipicamente, apresentam excesso de peso e, em especial, maior a obesidade central (157). O acúmulo de gordura abdominal está associado ao prejuízo às ações da insulina e se correlaciona fortemente com a síndrome metabólica (158). O maior valor da RCE observado nas crianças e adolescentes com CAP pode, de certa forma, ser um indicador de maior acúmulo de gordura central nesses indivíduos. Complementarmente, sabe-se que dietas com alto conteúdo de ácidos graxos saturados e carboidratos simples podem contribuir para a piora do quadro de resistência à insulina (159). Por conseguinte, é possível que possa existir padrões alimentares distintos entre os indivíduos com e sem compulsão alimentar influenciando a glicemia e o HOMA-IR, muito embora a avaliação do consumo alimentar não foi realizada neste trabalho.

Em estudo que avaliou a composição da dieta em crianças e adolescentes por meio de refeições em laboratório, demonstrou a associação da perda de controle sobre o ato de comer a um consumo mais elevado de calorias proveniente de carboidratos (principalmente de sobremesas e *snacks*) e menor a partir de proteínas (laticínios e carnes, especialmente) (160). A menor ingestão de energia advinda de proteínas e maior de gorduras – sem distinção do tipo de ácido graxo, no entanto – foi descrita em mulheres obesas com TCAP (161). A análise de registros alimentares de indivíduos que relataram episódios de CAP, demonstra a ocorrência mais frequente de refeições desequilibradas, concomitantemente à baixa ingestão de produtos lácteos nestes indivíduos (162). Adicionalmente, a maior preferência por doces entre os pacientes com TCAP é um achado comumente observado (163,164).

Ressalta-se que não foram visualizadas diferenças nas frequências dos grupos de CAP no que concerne à presença dos fatores de RCM. É presumível que os critérios estabelecidos como pontos de corte para a presença ou ausência dos fatores de RCM possam ter contribuído para a falta de associação, considerando que na adolescência e, especialmente, na infância, as repercussões à saúde decorrentes do excesso de peso, possam ainda não ter se manifestado. Dessa forma, o número de indivíduos na amostra que atenderam suficientemente aos critérios para cada fator de RCM pode não ter sido

de fato visualizado, apesar das médias mais elevadas dos parâmetros metabólicos no grupo de crianças e adolescentes obesos com CAP.

O escore na ECAP foi mais elevado nas meninas em relação aos meninos ($18,7 \pm 8,5$ vs. $15,9 \pm 8,2$; $p < 0,001$), corroborando com a existência de diferenças relativas ao gênero para a compulsão alimentar. Observou-se um risco 2,156 maior (IC 95% 1,461 – 1,277; $p < 0,001$) entre as meninas de apresentar CAP em comparação a meninos, após ajuste para idade e Z-IMC. Esse achado reforça a hipótese de que TAs estejam mais comumente presentes no gênero feminino (165). Estima-se que para a AN, a razão mulheres:homens seja de aproximadamente 9:1, enquanto que para o TCAP, esta razão seja próxima de 3:2 (166), propondo que em estudos que busquem realizar inferências a respeito de TAs, seja apropriado avaliar a população discriminadamente por gênero quando exequível ou considerar a influência do gênero sobre os desfechos.

Possivelmente um dos fatores explanatórios para a maior predisposição no gênero feminino ao TCAP decorra do ideal de beleza permeado na cultura ocidental, elemento que em parte estimularia a supervalorização da magreza e a preocupação com os aspectos relacionados ao tamanho corporal e peso, condicionando as mulheres, portanto, a atitudes e comportamentos alimentares potencialmente prejudiciais à saúde e que poderiam cursar com um TA (167, 168). Em conjunto à influência sociocultural, a leptinemia poderia representar um componente fisiológico importante para a maior prevalência do TCAP no gênero feminino. Considerando-se que a leptina apresenta correlação a sintomas da CAP (22, 56, 57) e, no gênero feminino, os níveis de leptina são superiores, é possível que pela resistência à leptina ocorram alterações na regulação do apetite e saciedade que possam contribuir para o desenvolvimento e manutenção da CAP nestes indivíduos (55).

No presente estudo, não foi verificada a associação entre os polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* com a CAP. Trabalho relacionados à investigação dos TAs, apresentam campo de grande interesse no que tange à participação de aspectos genéticos em sua etiopatogenia, muito embora, por se tratarem de doenças complexas, exista recorrentemente uma lacuna na associação entre genes candidatos e a susceptibilidade ao TA. Resultados obtidos a partir de estudo realizado por Bulik *et al.* (2000) com gêmeos, sugerem que a herdabilidade – que expressa a relação entre a

variância genotípica e a variância fenotípica – para o TCAP seja superior a 40% (169), resultado em concordância com outros trabalhos (170,171). Estudos com este tipo de delineamento constituem-se de ferramenta potencialmente útil para a quantificação do peso de componentes genéticos e ambientais para um determinado atributo fenotípico, visto que diferenças entre um par de gêmeos monozigóticos resultam unicamente de fatores ambientais, ao passo que as diferenças entre gêmeos dizigóticos podem ocorrer devido a outros fatores genéticos ou ambientais (172).

Paralelamente, os estudos de associação utilizam uma abordagem distinta, baseada numa hipótese que, *a priori*, assenta em evidências bioquímicas e fisiológicas de componentes endógenos que podem estar envolvidos na etiopatogenia da doença de interesse. São eleitos genes candidatos que caracterizariam, portanto, o aspecto hereditário da doença. As mutações e polimorfismos de genes candidatos que potencialmente afetam a estrutura da proteína ou alteram sua expressão são de especial interesse (173, 174).

Os estudos, em sua maioria, tratam da investigação dos aspectos genéticos relacionados aos TAs mais bem documentados na literatura, como a AN e BN, havendo limitação nos trabalhos disponíveis acerca da influência de fatores genéticos em relação ao TCAP. Não obstante, apresentem componentes clínicos e critérios diagnósticos distintos, a avaliação de estudos que concernem à BN pode apresentar grande relevância ao se traçar um paralelo entre o aspecto da compulsão alimentar presente na bulimia que se superpõe também no TCAP.

Hinney *et al.* (1998) ao investigarem associações de TAs e a obesidade com mutações no gene *LEP* e regiões vizinhas, identificaram pela primeira vez o polimorfismo G-1387A, localizado próximo à região promotora do gene *LEP* que, no entanto, não apresentou nenhuma associação em pacientes com BN, AN e também com crianças e adolescentes com obesidade grave (175). A influência dos polimorfismos rs1137100, rs1173101 e rs8179183 no gene *LEPR* foi estudada por Quinton *et al.* (2004) em estudo envolvendo 304 mulheres com AN e grupo controle sem o transtorno. Os autores não observaram associação entre os SNPs com a AN e o peso, mesmo quando os pacientes foram subdivididos em grupos de AN com comportamentos restritivos ou de compulsão/purgação (176).

A hipótese aventada no presente estudo se embasou na suposição de que o SNP no gene *LEP*, localizado na região promotora do gene, poderia modular a expressão da leptina e causar variação de seus níveis no organismo, enquanto os SNPs no gene *LEPR* poderiam modificar a expressão do ObR e/ou seus sítios de ligação, impactando sobre as vias de sinalização da leptina. Essas alterações poderiam repercutir sobre as ações da leptina na regulação do apetite e da saciedade e, em última instância, predispor o indivíduo a uma maior ou menor susceptibilidade à CAP.

Bacanu *et al.* (2005) evidenciou em estudo de ligação em famílias com AN e BN a importância de regiões do cromossomo 1 – no qual o gene *LEPR* está localizado – na suscetibilidade a estes TAs (177). Este achado foi confirmado Monteleone *et al.* (2008) que descrevem este cromossomo como sendo um importante *locus* também para a obesidade, sugerindo haver a sobreposição de genes relacionados à BN com os mesmos genes para a obesidade, hipótese reforçada pelas evidências clínicas de que pacientes com BN recorrentemente apresentam-se no limite para o excesso de peso ou obesidade (172).

5.2. Polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* e fatores cardiometabólicos

Indivíduos de genótipo GA e AA do rs7799039 foram mais frequentes no grupo de obesos em relação aos de genótipo GG, sugerindo, portanto que a presença o alelo A aumentou o risco para a obesidade em 1,530 (IC 95% 1,022 – 2,292; $p = 0,039$). Paralelamente, a presença do alelo A foi associada ao nível mais elevado de leptina ($39,3 \pm 16,2$ vs. $49,0 \pm 23,3$ ng/mL; $p = 0,041$) acompanhada da tendência à maior leptina ajustada à massa gorda ($p = 0,055$) e o maior nível de colesterol total ($160,2 \pm 30,4$ vs. $176,4 \pm 39,8$ mg/dL; $p = 0,049$) no grupo de meninas pré-púberes e o alelo A associou-se à maior glicemia ($82,9 \pm 8,3$ vs. $79,1 \pm 8,2$ mg/dL; $p = 0,018$) em meninos pré-púberes.

Em concordância aos nossos achados, o genótipo AA foi associado com o risco para o excesso de peso (OR = 3,64, IC 95%: 1,15 - 11,54; $p = 0,025$) em estudo envolvendo 613 adolescentes provenientes de uma população multiétnica da Malásia (178). Mammés *et al.* encontraram associação do polimorfismo com o nível aumentado de leptina em indivíduos adultos obesos (149) e, posteriormente, em

continuação ao estudo deste polimorfismo numa casuística ampliada para 423 adultos, observou-se que homens de genótipo AA, apresentaram maior leptina após ajuste para massa gorda, sugerindo potencial influência do SNP sobre a regulação da leptinemia (179, 180). Em estudo que investigou a associação do polimorfismo com a obesidade, níveis séricos de leptina e parâmetros lipídicos em mulheres, a frequência do alelo A foi superior no grupo de obesos e foi relacionado ao nível mais elevado de leptina, sugerindo que o SNP pode conferir risco para obesidade nesta população (73).

A influência documentada na literatura acerca de polimorfismos comuns no gene *LEP* sobre alteração no nível de leptina e excesso de peso é controversa e a falta de associação é descrita em diversos estudos. Contrariamente, Li *et al.* (1999) descreveram a frequência mais elevada do alelo ancestral em mulheres com obesidade mórbida, em estudo que investigou variantes presentes na região 5' flanqueadora do gene da leptina (79). Em trabalho que avaliou 228 mulheres, portadoras do alelo G do rs7799039 apresentaram um risco aproximadamente quatro vezes maior para obesidade (OR = 4,11; IC 95%: 1,06 - 15,90; p = 0,041). O alelo G também foi associado ao aumento da leptina plasmática nesta população, mas não diferiu quanto a alterações metabólicas, caracterizadas pela HAS, hiperglicemia e dislipidemia (76). Num estudo que examinou a relação do polimorfismo com os níveis de leptina e variáveis de composição corporal em crianças com 12 e 16 anos encontrou que, nesta fase, os jovens de genótipo AA exibiram menor nível de leptina em comparação aos demais genótipos e observaram a frequência do alelo G mais elevada no grupo com excesso de peso, sugerindo o efeito protetor do polimorfismo (181).

Em estudo de Hoffstedt *et al.* (2002) envolvendo 39 mulheres não-obesas, os níveis de mRNA de leptina no tecido adiposo foram 60% mais elevados nas mulheres de genótipo AA em comparação ao grupo de portadoras do alelo G. As mulheres homozigotas para o alelo A apresentaram níveis superiores de leptina em comparação às de genótipo GA/GG ($14,5 \pm 2,1$ vs. $9,7 \pm 0,9$ ng/mL; p = 0,02) sendo observada uma taxa de secreção de leptina no tecido adiposo duas vezes superior, diferença mantida após ajuste para IMC (75).

Paralelamente, num estudo que avaliou em nível molecular a influência do polimorfismo em células de câncer mamárias, os autores documentam a expressão de leptina diferenciada entre as células dos diferentes genótipos do rs7799039. Foi

observada que a ocorrência do alelo A em homozigose e heterozigose, respectivamente, coincidiu com a expressão elevada e intermediária de mRNA de leptina em comparação às células com o alelo G em homozigose, sugerindo que a presença do alelo A do rs7799039 provoque mudanças na expressão de leptina a nível transcricional (182). Apesar do rs7799039, localizado na posição -2548 do gene, não estar mapeado para qualquer sítio regulatório conhecido, situa-se próximo ao domínio de ligação ao DNA (*motif*) do fator de transcrição Sp1 (CCCGCCT; -2539/-2534). O *motif* do Sp1 demonstrou ser regulado pela insulina e modular a expressão de leptina também em estudo com células de câncer mamário (183). Paralelamente, a nucleolina, uma fosfoproteína que apresenta diversas ações e implicada na transcrição RNA ribossômico (184), é um fator nuclear que pode se ligar ao *motif* do Sp1 (185). Supõe-se que o SNP rs7799039 poderia de alguma forma favorecer a interação entre o Sp1 e a nucleolina, causando o intercâmbio da atividade transcricional da nucleolina e do Sp1 (182). Os efeitos da substituição do alelo do SNP na expressão de leptina, contudo, permanecem por ser melhor elucidados.

Nas crianças e adolescentes avaliados neste trabalho, o genótipo GC/CC do rs8179183 associou-se ao maior percentil de PAD ($71,1 \pm 19,3$ vs. $62,2 \pm 22,8$; $p = 0,012$) em meninos pré-púberes e, o diplótipo 7 (AAG/AGG), caracterizado pela presença do alelo ancestral em homozigose do rs1137100 (AA) e rs8179183 (GG) e heterozigose do rs1137101 (AG) foi relacionado ao menor percentil de PAD ($54,7 \pm 24,5$ vs. $66,2 \pm 20,6$; $p = 0,003$) em meninos, sugerindo, portanto, o efeito de risco conferido pela presença do alelo polimórfico dos SNPs. Os achados descritos na literatura concernem em sua maioria ao rs1137101 e apresentam-se divergentes dos resultados observados neste estudo ou constataam a falta de associação dos SNPs com a pressão arterial.

No estudo caso-controle que avaliou a associação do rs1137101 com a HAS em 544 indivíduos hipertensos e 357 controles, evidenciou-se que portadores do alelo A apresentaram maior risco de HAS (OR = 1,549, IC 95% 1,031 - 2,036; $p = 0,035$) (186). Diferenças para o rs8179183 quanto aos níveis pressóricos não foram documentadas em homens obesos, ao passo que a homozigose para o alelo G do rs1137101 foi associada à menor pressão arterial, independentemente da idade e IMC (94). No *Finnish Diabetes Prevention Study*, pacientes de genótipo GG do rs1137101,

submetidos a um programa de intervenção direcionado à perda de peso, exibiram menor média da pressão arterial sistólica em comparação a portadores do alelo ancestral (83), denotando o efeito protetor do polimorfismo. Na avaliação de 284 homens, documentou-se que os indivíduos de genótipo GG apresentaram menores valores médios na pressão arterial sistólica e diastólica (10,0 e 7,8 mmHg, respectivamente) e foram menos frequentes no grupo de hipertensos, sugerindo que este polimorfismo exerça atividade protetora para a HAS (86) em divergência aos resultados obtidos no presente trabalho.

Em trabalho que investigou em 103 adolescentes mexicanos a associação das três variantes do gene *LEPR* avaliadas no presente trabalho com a obesidade e a atividade simpática cardíaca, por meio de monitorização eletrocardiográfica, observou a relação do alelo ancestral do rs1137101 com o maior nível de leptina e maior atividade simpática cardíaca, sem efeito sobre a obesidade. Os autores sugerem que este SNP, favoreça parcialmente o aumento da atividade simpática pela elevação nos níveis de leptina, predispondo o indivíduo a alterações hemodinâmicas (187).

A investigação dos efeitos de SNPs no gene *LEPR* sobre a leptinemia e a atividade simpática, avaliada pela taxa de liberação (*spillover*) geral de noradrenalina em uma coorte de jovens normotensos, encontrou frequências significativamente maiores dos alelos polimórfico do rs8179183 e rs1137101 no grupo com excesso de peso, além da associação dos SNPs com níveis mais elevados de leptina e a menor taxa de *spillover* de noradrenalina, especialmente nos jovens com excesso de peso. Nestes indivíduos, a pressão arterial não diferiu e, a explicação para a menor ativação simpática mesmo diante da leptina mais elevada pode em parte ser atribuída pela resistência à ação da leptina nos indivíduos com o excesso de peso (188).

A concentração de leptina plasmática correlaciona-se positivamente com o *spillover* aumentado de noradrenalina nos rins e ao aumento de sua atividade simpática que, por sua vez, está implicada na elevação da pressão arterial. Juntos, esses achados fornecem suporte para a hipótese de que o aumento da atividade simpática pela leptina participe do desenvolvimento e progressão do estado hipertensivo (49).

Apesar das ações da leptina na redução da pressão arterial a curto prazo, como ocorre nos rins, onde atua diretamente aumentando a excreção renal de sódio e estimulando a produção de óxido nítrico, os efeitos pressores da leptina parecem

predominar (189). Para evidenciar o efeito da leptina sobre a pressão arterial decorrente da ativação simpática, foi demonstrado em modelo animal que a administração da leptina, mediante o bloqueio de receptores α e β adrenérgicos, não promoveu alteração dos níveis pressóricos, muito embora as ações da leptina sobre a ingestão alimentar e controle de peso permaneceram. Após a interrupção da infusão de leptina, observou-se que todos os parâmetros avaliados retornaram aos níveis basais (51). Adicionalmente, a infusão crônica de leptina em camundongos não-obesos para níveis semelhantes de camundongos com obesidade, induz ao aumento pressórico significativo concomitantemente à redução na ingestão calórica (190, 191). Os resultados sugerem que a administração intracerebral de leptina aumenta, de forma dose dependente, os níveis de pressão arterial e frequência cardíaca, sendo consistentes com a participação da leptina no desenvolvimento da HAS (190, 191, 192).

A HAS se desenvolve quando os rins não conseguem regular a natriurese corretamente, resultando em aumento da reabsorção tubular de sódio e retenção de líquidos (193). Outros fatores estão envolvidos no desenvolvimento da hipertensão pela obesidade, incluindo danos renais, ativação do sistema renina-angiotensina e compressão física dos rins (193, 194). A hiperleptinemia crônica contribui para a maior atividade simpática dos rins, muito embora também apresente efeitos nas glândulas adrenais, na musculatura cardíaca e via vasoconstrição periférica pode, em conjunto, causar elevação da pressão arterial.

A atividade simpática é mediada centralmente pelas ações da leptina em neurônios localizados no hipotálamo ventromedial e dorsomedial (195). A ativação hipotalâmica mediada pela leptina do sistema melanocortina e em especial do MC4R, são fatores-chave no controle da obesidade e da pressão arterial. Camundongos com deleção do gene *MC4R* e, portanto, deficientes para o receptor, mesmo quando obesos, apresentam pressão arterial e frequência cardíaca diminuídas quando comparados a camundongos do tipo selvagem. A infusão crônica de leptina nos camundongos do tipo selvagem induz ao aumento pressórico paralelamente à diminuição da ingestão alimentar e perda de peso, não sendo estes efeitos observados nos camundongos com deleção do gene *MC4R*. Estes resultados reforçam a hipótese de que na deficiência de

um receptor funcional de melanocortina, os efeitos pressóricos da leptina são abolidos (196).

Na avaliação das crianças e adolescentes obesos, em relação aos parâmetros metabólicos, o genótipo GC/CC foi associado a maior glicemia tanto em meninas pré-púberes ($79,2 \pm 10,0$ vs. $73,6 \pm 10,3$ mg/dL; $p = 0,021$) quanto em meninos púberes ($82,9 \pm 8,3$ vs. $79,1 \pm 8,2$ mg/dL; $p = 0,018$). Concomitantemente, as meninas com o diplótipo 14 (AGG/GGG) no gene *LEPR* apresentaram menor glicemia ($71,6 \pm 7,6$ vs. $79,4 \pm 10,8$ mg/dL; $p = 0,004$) e HOMA-IR ($3,7 \pm 2,8$ vs. $5,1 \pm 3,5$; $p = 0,045$). O diplótipo 14 (AGG/GGG) é caracterizado pela heterozigose do rs1137100 (AG) e homozigose para o alelo ancestral do rs1137101 (GG) e rs8179183 (GG) e, o resultado corrobora com o possível efeito de risco conferido pelos SNPs com relação a estes parâmetros metabólicos. O número de casos do diplótipo 14, observado no grupo de obesos, entretanto, mostrou-se baixa.

Ressalta-se que nenhum dos polimorfismos demonstrou associação com o risco para glicemia de jejum alterada. É possível que a inconsistência na associação possa ter decorrido, em parte, devido à baixa frequência de crianças e adolescentes com hiperglicemia em nossa população – conforme discorrido anteriormente.

A relação de polimorfismos no gene *LEPR* com a alteração no metabolismo de carboidratos é documentada em estudo transversal de Aller *et al.* (2012) que investigaram a influência do rs8179183 em 76 pacientes com excesso de peso e diagnóstico de DHGNA. De forma concordante à observada em nosso estudo, demonstrou-se que o genótipo CC esteve relacionado à maior glicemia de jejum e HOMA-IR, conjuntamente a índices superiores de adiposidade, como a massa gorda e relação cintura-quadril (197). A presença do alelo polimórfico do rs1137100 e rs1137101 foi associada a maiores níveis de glicemia de jejum, colesterol total e LDL-c ao passo que o rs1137100 esteve relacionado com a resistência à insulina em estudo do tipo caso-controle com pacientes hipertensos (186). Adicionalmente, a presença do alelo polimórfico no haplótipo do rs7799039 e do rs1137101, relacionou-se a ao maior nível de insulina e risco para obesidade (198). Em indivíduos com DM2, os portadores do alelo C exibiram média do HOMA-IR e leptina superiores aos homozigotos para o G que, por sua vez, apresentaram nível de adiponectina mais baixo (199) sugerindo, portanto, que o SNP esteja associado a um pior perfil metabólico.

Não obstante, de Luis *et al.* (2011) verificaram a falta de associação entre os genótipos do rs8179183 com a síndrome metabólica em 714 indivíduos obesos (200). Posteriormente, em estudo prospectivo do mesmo grupo de pesquisa, cujo objetivo foi examinar a influência do rs8179183 em 67 obesos não diabéticos (IMC $34,1 \pm 5,1$ kg/m²) sobre a resposta a um programa de modificação do estilo de vida (constituído por prescrição de dieta hipocalórica e exercício físico), observou-se a redução de peso em todos os grupos ao final do estudo. Entretanto, nos obesos de genótipo GC/CC não foi verificada melhora dos níveis pressóricos e redução da leptina, sugerindo que o polimorfismo exerce possível efeito desfavorável sobre pressão arterial (95).

Apesar de não ter sido visualizada em nossa amostra a variação dos níveis de leptina entre os SNPs no gene *LEPR*, são documentados na literatura estudos que evidenciam a correlação existente entre a leptina e insulina. Num trabalho que avaliou prospectivamente em indivíduos hiperleptinêmicos os componentes da síndrome metabólica que poderiam ser afetados por esta condição, os pesquisadores constataram que o aumento da leptina foi relacionado ao nível de insulina mais elevado e intolerância à glucose, sugerindo que a leptina influencia a homeostase desses componentes por meio de mecanismos independentes da obesidade (201).

Trabalhos experimentais demonstram o papel fisiológico da leptina como um inibidor da secreção de insulina. *In vitro*, altas concentrações de leptina reduzem a secreção de insulina em células β pancreáticas de camundongos *ob/ob* (202). Em outras condições, a insulina aumenta a expressão do mRNA da leptina, denotando a existência de um mecanismo de *feedback* negativo entre a leptina e insulina (203). A leptina, por sua vez, demonstrou ser capaz de modular a atividades da insulina em adipócitos e também no músculo esquelético (203). A ativação da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) regula em tecidos periféricos as vias metabólicas que resultam na captação e oxidação de glicose, inibição da síntese de ácidos graxos no fígado e nos adipócitos e da glicogênese. Resultados provenientes de estudos em modelos animais e humanos sugerem que a atividade da leptina no estímulo à oxidação de ácidos graxos no músculo esquelético esteja prejudicada na obesidade (204).

Adicionalmente, a leptina e a insulina apresentam ações centrais sobre a regulação da homeostase energética. A insulina atua centralmente no hipotálamo por

meio da ligação com o seu receptor (IRS), ativando as cascatas de sinalização intracelular via o IRS e a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) (205). Esta via de sinalização desempenha um papel eminente no controle da homeostase energética, uma vez que, não somente a insulina mas também a leptina podem ativar a via de sinalização IRS/PI3K. O bloqueio da ativação da PI3K em camundongos acarreta em prejuízos às ações da insulina e da leptina e inibe os sinais anorexígenos, levando consequentemente à hiperfagia (206, 207).

Paralelamente, indivíduos obesos apresentam maior recrutamento de macrófagos no tecido adiposo, associado ao aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL-6 e a IL-12 (54). Evidências sugerem que os infiltrados de macrófagos em conjunto à alteração do tecido adiposo como secretor de leptina, favoreçam a deposição ectópica de triglicerídeos no fígado, músculo esquelético e outros tecidos, contribuindo para aumento da resistência à insulina e desenvolvimento de DM2 (54, 208, 209).

Quanto à avaliação dos polimorfismos no gene *LEPR* sobre o perfil lipídico em nosso estudo, o risco aumentado para hipertrigliceridemia foi conferido pela presença do alelo G do rs1137100 (OR= 1,926; IC 95% 1,010 – 3,673; p= 0,047) e rs1137101 (OR = 2,039; IC 95% 1,057 – 3,931; p = 0,033) em meninas. A presença do alelo C do rs8179183, relacionou-se ao maior colesterol total ($173,8 \pm 29,1$ vs. $157,9 \pm 34,1$ mg/dL; p = 0,030), LDL-c ($108,5 \pm 25,0$ vs. $94,6 \pm 28,9$ mg/dL; p = 0,025) e à tendência a triglicérides mais elevado (p = 0,055) em meninos púberes. Na comparação entre os diplótipos no gene *LEPR*, verificou-se entre as meninas com o diplótipo 9 (AAG/GGG) valores mais elevados de triglicérides ($120,8 \pm 45,6$ vs. $104,4 \pm 44,4$ mg/dL; p = 0,042) concomitantemente à tendência para ao HDL-c mais baixo (p = 0,067). As meninas com o diplótipo 2 (AAC/AAG), por sua vez, exibiram menor nível de triglicérides ($84,7 \pm 31,6$ vs. $109,8 \pm 45,6$ mg/dL; p = 0,002). Estes achados, denotam um possível risco exercido pelo diplótipo 9 (AAG/GGG) em virtude da heterozigose dos SNPs rs1137100 (AG) e rs1137101 (AG). É interessante observar que para o diplótipo 2 (AAC/AAG), a homozigose do alelo ancestral do rs1137100 (AA) e rs1137101 (AA) e a heterozigose do rs8179183 (GC) parece acarretar num efeito favorável para o menor nível de triglicérides e pode explicar em parte, a

significância estatística marginal ($p = 0,055$) observada na comparação deste parâmetro entre os meninos de genótipo GG e GC/CC do rs8179183.

A literatura sobre os efeitos dos polimorfismos no gene *LEPR* em relação ao metabolismo lipídico e, especialmente, sobre as concentrações de triglicérides e HDL-c são pouco documentadas. Os trabalhos, majoritariamente, concernem ao SNP rs1137101 e a associação dos polimorfismos exibe resultados controversos.

De forma concordante ao observado em nosso trabalho, em estudo caso-controle envolvendo 326 adultos foi demonstrada a relação entre o alelo polimórfico do rs1137100 com o aumento do nível de colesterol total e triglicérides, sugerindo que o polimorfismo propicie um risco maior para o perfil lipídico aterogênico (210). No trabalho de Saukko *et al.* (2010) que teve como objetivo avaliar em 526 indivíduos de meia-idade as associações entre os SNPs no gene *LEPR* com fatores de risco para aterosclerose, como a dosagem de lípidos e a espessura da camada íntima-média de carótidas, observaram que os SNPs rs1137100 e rs1137101 foram associados à aterosclerose precoce independentemente da adiposidade (85).

A investigação do rs1137101 com a obesidade, parâmetros lipídicos e resistência à insulina em 200 indivíduos obesos e grupo controle, não evidenciou haver diferenças em relação à adiposidade, porém a homozigose para o alelo G relacionou-se nos obesos ao maior nível de colesterol total e LDL-c (211). Em trabalho composto por 644 indivíduos que examinou a influência do rs1173101 sobre a hiperlipidemia combinada familiar, identificou que os portadores do alelo G apresentaram um risco 1,6 maior para a condição quando comparados aos homozigotos para o alelo A (212).

Contrariamente, a investigação da influência do rs1137101 como fator de risco para a obesidade em indivíduos saudáveis, encontrou que portadores do alelo A apresentaram nível mais elevados de triglicérides após ajuste para fatores de confusão (idade, gênero e IMC). O polimorfismo não foi associado à obesidade e os autores inferem que o SNP poderia predispor indivíduos saudáveis a alterações metabólicas independentemente do excesso de peso (213). Analogamente, em trabalho que avaliou 251 adultos saudáveis foi documentado que homens com o genótipo GG apresentaram valores de triglicérides 27% menor em comparação aos indivíduos de genótipo AA. Adicionalmente, os homozigotos para o alelo G exibiram menor colesterol total e LDL-c (214).

No presente trabalho, a presença do alelo A do rs7799039 no gene *LEP* foi associada ao maior nível de colesterol total e leptina nas meninas pré-púberes. Crescenti *et al.* (2013) em estudo que avaliou em indivíduos com hipercolesterolemia os efeitos de consumo de fibra solúvel sobre marcadores de risco cardiovascular e a influência de polimorfismos em genes relacionados às vias do controle do apetite e saciedade, visualizaram que o efeito benéfico da ingestão de fibras na redução da concentração de colesterol total mostrou-se variável de acordo com os genótipos do polimorfismo rs7799039 e sugerem que o SNP possa prejudicar os efeitos periféricos da leptina no metabolismo do colesterol (215).

A concentração da leptina plasmática demonstra estar positivamente correlacionada com a adiposidade e possivelmente exerce influência sobre fatores de risco clássicos para a aterosclerose (216). A hiperleptinemia está associada com a maior calcificação de artérias coronarianas (217), agregação plaquetária (218) e o acúmulo de ésteres de colesterol em células espumosas (219). Além disso, os níveis aumentados de leptina semelhantes aos observados nos indivíduos obesos demonstraram aumentar o risco para a trombose (220).

O tecido adiposo afeta o metabolismo dos triglicerídeos pela produção de leptina e adiponectina, além de enzimas como a lipase lipoprotéica e proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP). A importância da leptina na regulação dos níveis de lipídios é visualizada em indivíduos com lipodistrofia, que tipicamente apresentam maior distribuição de gordura central e em menor proporção, tecido adiposo subcutâneo. Estes indivíduos sofrem de hipertrigliceridemia e resistência à insulina, bem como menor leptinemia (221).

A maioria dos pacientes obesos, não obstante, apresenta níveis elevados de leptina. Porém, devido à resistência à ação da leptina ocorrem disfunções no tecido adiposo que podem induzir a anormalidades no metabolismo lipídico, como a hipertrigliceridemia – decorrente do aumento da produção hepática de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-c) e redução da hidrólise de triglicérides – aumento de partículas de LDL-c pequenas e densas, além do baixo nível de HDL-c, estando todos esses fatores em conjunto associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (222).

Em nosso estudo, meninas púberes portadoras do alelo C do rs8179183 apresentaram maior RCE ($0,67 \pm 0,09$ vs. $0,66 \pm 0,08$; $p = 0,031$) quando comparadas às de genótipo GG. Trabalhos que avaliam a participação dos polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* com parâmetros de distribuição de gordura corporal, contudo, são limitados.

A investigação de Wauters *et al.* (2001) acerca dos efeitos de polimorfismos no gene *LEPR* sobre o padrão de distribuição de gordura em 280 mulheres com excesso de peso pré e pós-menopausa, observaram associação do alelo C do rs8179183 à maior circunferência do quadril e gordura subcutânea no grupo de mulheres pós-menopausa. As portadoras do alelo A do rs1137101, por sua vez, exibiram maior quantidade de gordura abdominal, sugerindo a influência desses polimorfismos na distribuição de gordura (223). Por outro lado, Heo *et al.* (2002) ao analisarem dados de 3.263 indivíduos provenientes de nove estudos relativos ao gene *LEPR*, não verificaram evidências a respeito da associação entre os polimorfismos no gene com medidas de IMC e de composição corporal (88).

No presente trabalho, os três polimorfismos avaliados no gene *LEPR* não se mostraram associados a diferentes níveis de leptina. A documentação na literatura relativa à influência dos polimorfismos em consideração à leptinemia apresenta controvérsias e a associação inconsistente é descrita em diversos estudos (82, 85, 94, 223, 224, 225). Adicionalmente, as diferenças nos parâmetros antropométricos, clínicos e metabólicos observadas ao se comparar os indivíduos de diferentes genótipos para cada SNP, apresentou-se distinta entre os gêneros. Foram visualizadas diferenças entre medidas antropométricas, como a RCE, assim como de parâmetros metabólicos, tais como a pressão arterial, glicemia e lípidos. Bender *et al.* (2011) numa metanálise que investigou as variantes no gene *LEPR* com o excesso de peso discorre que o gênero consiste como um fator de modificação significativo na visualização do efeito dos polimorfismos sobre desfechos como a obesidade e comorbidades e, portanto, a estratificação da amostra por gênero pode ser recomendável para estes estudos de associação. Corroborando com esta recomendação, Magi *et al.* (2010) observaram risco conferido pelo rs1137101 sobre a adiposidade apenas em meninas, porém não em meninos (226), enquanto a visualização do efeito deste SNP sobre o excesso de peso em adultos foi verificada também no gênero feminino (227).

O gene *LEPR* é altamente polimórfico sendo os três polimorfismos avaliados neste estudo localizados em regiões que codificam o domínio extracelular do ObR e que, portanto, poderiam afetar os domínios de ligação de todas as isoformas do receptor (228). Apesar de relativamente explorados em estudos de associação com a obesidade e alterações metabólicas, apresenta-se escassa a literatura acerca da alteração funcional que os polimorfismos no gene *LEPR* poderiam conferir.

Até o momento, os estudos existentes são inconsistentes com a alteração na funcionalidade do ObR causada pelos SNPs (229). Stefan *et al.* (2002) descrevem a associação do polimorfismo rs1137101 à menor capacidade de ligação da leptina à isoforma solúvel de seu receptor (ObRe) no plasma. Apesar de não estar bem estabelecido o funcionamento do ObRe, especula-se que a modificação causada pelo rs1137101 poderia contribuir para a resistência às ações da leptina no organismo (230). Em estudo que avaliou os efeitos biológicos do rs1137101, entretanto, não foram observados efeitos do polimorfismo na composição corporal ou gasto energético em camundongos alimentados com dietas de diferente conteúdo lipídico. Na análise *in vitro*, o SNP não afetou a sinalização da leptina avaliada por meio da ativação da STAT3. Os autores concluem que seja pouco provável que o polimorfismo desempenhe um papel significativo na regulação da obesidade (231).

Em nossa população, os polimorfismos não mostraram associação à CAP. Contudo, o SNP rs7799039 no gene *LEP* demonstrou ser possivelmente importante na regulação dos níveis de leptina e no risco para obesidade, enquanto os SNPs no gene *LEPR* mostraram-se associados ao maior risco cardiometabólico.

Deve ser considerada entre as limitações do presente trabalho, o tamanho e a complexidade étnica da população estudada e o número de polimorfismos analisados. Adicionalmente, a CAP foi avaliada por meio de questionário desenvolvido para o rastreamento de sintomas relacionados ao TCAP e não propriamente para o seu diagnóstico. É interessante salientar, entretanto, que estudos de associação que avaliem a influência de polimorfismos sobre transtornos alimentares em crianças e adolescentes apresentam-se escassos na literatura, sendo este o primeiro estudo de que se tem conhecimento a avaliar os polimorfismos nos genes *LEP* e *LEPR* e a compulsão alimentar periódica em população latino-americana.

Por final, destaca-se que o estudo de associação de polimorfismos com transtornos alimentares e a obesidade são complexos de serem avaliados uma vez que os efeitos promovidos por cada polimorfismo são em grande parte sutis (232), conferindo na realidade pequeno risco no desenvolvimento do fenótipo em questão e a observação de sua verdadeira influência é dificultosa, decorrente da influência muito heterogênea do ambiente.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

- Os polimorfismos rs7799039 no gene *LEP* e rs1137100, rs1137101 e rs8179183 no gene *LEPR* não estão associados à compulsão alimentar periódica em crianças e adolescentes obesos;
- Crianças e adolescentes obesos com a compulsão alimentar periódica possuem maior adiposidade e um pior perfil metabólico e a compulsão alimentar periódica é mais frequente em meninas obesas do que em meninos obesos;
- Os polimorfismos rs1137100 e rs1137101 no gene *LEPR* estão associados ao risco aumentado para a hipertrigliceridemia em meninas;
- O polimorfismo rs7799039 no gene *LEP* está associado ao maior nível leptina e colesterol total em meninas e à maior glicemia em meninos;
- O polimorfismo rs8179183 no gene *LEPR* está associado ao maior risco cardiometabólico, implicando na relação cintura-estatura e glicemia mais elevadas em meninas e no maior percentil de pressão arterial diastólica, glicemia, colesterol total e LDL-colesterol em meninos;
- Os diplótipos dos polimorfismos rs1137100, rs1137101 e rs8179183 no gene *LEPR* estão associados ao maior risco cardiometabólico pela glicemia, HOMA-IR e triglicérides mais elevados e ao HDL-colesterol mais baixo em meninas e ao maior percentil de PAD em meninos;
- O polimorfismo rs7799039 no gene *LEP* confere risco aumentado para obesidade e o rs1137100, rs1137101 e rs8179183 no gene *LEPR* não estão associados à obesidade.

ANEXOS

7. ANEXOS

Anexo A - Carta de aprovação da comissão de ética para análise de projetos de pesquisa (CAPPesq) do HC-FMUSP

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0438/11

Título: EFEITO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES DA LEPTINA E DO RECEPTOR DA LEPTINA SOBRE A COMPULSÃO ALIMENTAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS

Pesquisador Responsável: Marcio Corrêa Mancini

Pesquisador Executante: Clarissa Tamie Hiwatashi Fujiwara

Finalidade Acadêmica: Mestrado

Departamento: CLÍNICA MÉDICA

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA** na sessão datada de 14/09/2011 o protocolo acima.

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

Professora Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação
Em Endocrinologia

CAPPesq, 16 de Setembro de 2011

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO SUJEITO DA PESQUISA:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐
 DATA DE NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL:
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐
 DATA DE NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA**1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA**

**EFEITO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES DA LEPTINA E DO RECEPTOR DA LEPTINA SOBRE A
 COMPULSÃO ALIMENTAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS**

PESQUISADOR : Marcio Corrêa Mancini

CARGO/FUNÇÃO: Médico assistente

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº CREMESP 57605

UNIDADE DO HCFMUSP: Endocrinologia

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐

RISCO MAIOR ☐

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses.

Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) - Continuação

2

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - HCFMUSP

1 – Essas informações estão sendo fornecidas para a participação voluntária neste estudo que visa investigar se o paciente possui determinadas alterações genéticas que podem estar associadas à compulsão alimentar (consumo de uma grande quantidade de comida num curto período de tempo com a sensação de perda de controle sobre o que e o quanto é ingerido) e predispor a um maior risco para o desenvolvimento de obesidade e doenças associadas. Para isso, o paciente fará parte de um grupo controle de crianças e adolescentes com peso adequado para idade e gênero e o estudo compreenderá também um grupo composto de indivíduos com obesidade;

2 – Será realizada avaliação: antropométrica (obtenção das medidas corporais); clínica e laboratorial (rastreamento de doenças comumente associadas à obesidade e demais alterações metabólicas); do comportamento alimentar e do estudo genético. Exceto pela coleta de material para o estudo genético, todos os procedimentos descritos são realizados na rotina de atendimento do serviço da Liga de Obesidade Infantil da disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP. Não há procedimento experimental no estudo;

3 – A avaliação deste estudo será realizada em dois momentos: o primeiro, no qual o paciente será avaliado quanto aos parâmetros antropométricos e clínicos (peso, altura, circunferências da cintura e cervical, pressão arterial, frequência cardíaca e estadiamento puberal) e responderá a um questionário sobre compulsão alimentar (quando for possível sua compreensão). O segundo momento consiste na avaliação laboratorial (coleta de sangue em jejum por punção periférica da veia do antebraço, cortisol salivar), além da coleta de sangue para o estudo genético (será colhido volume de 10 ml, equivalente a 2 colheres de sopa). O procedimento para a coleta de sangue é realizada com o paciente acompanhado do responsável legal, sendo todo o material utilizado estéril e descartável. No segundo momento, também será realizado o exame de bioimpedância, no qual o paciente permanece deitado e tem dois adesivos (de fácil remoção) grudados na mão e no pé, para avaliação da composição corporal;

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: o único desconforto está relacionado à coleta de sangue em que pode ocorrer dor da picada da agulha e eventualmente o aparecimento de um pequeno hematoma (mancha arroxeadada em torno da picada) que desaparecerá após alguns dias;

5 – Benefícios para o participante: não há benefícios diretos ao participante, entretanto, a investigação sobre alterações genéticas e sua relação com o comportamento alimentar, desenvolvimento da obesidade e doenças associadas aprofunda o conhecimento sobre o tema, abrindo perspectivas para prevenção e tratamento da mesma;

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar: por se tratar de um estudo que não implica em tratamento, não se aplicam outros procedimentos, o paciente e o responsável são livres para participar ou não;

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, o participante ou responsável legal poderá contatar os profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O investigador principal, Dr. Marcio Corrêa Mancini, pode ser encontrado no endereço Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 455 – 4º andar, Bloco 4B - Sala 11a ou através do telefone (11) 3069-7516. Se o participante ou responsável legal apresentar alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar, telefone (11) 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, fax (11) 3069-6442 ramal 26, e-mail: cappelq@hcnet.usp.br;

Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) - Continuação

3

225 – 5º andar, telefone (11) 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, fax (11) 3069-6442 ramal 26, e-mail: cappesq@hcnet.usp.br;

8 – É garantido ao paciente, através do seu responsável legal, a liberdade da retirada do termo a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

9 – É garantido ao paciente o Direito de confidencialidade: as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

10 – O paciente e seu responsável tem o direito de ser mantido atualizado sobre os achados encontrados neste estudo. Para fornecimento de resultados os pacientes serão convocados através do telefone ou endereço informados neste termo;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase deste estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação;

12 - Os dados e material coletados nesta pesquisa serão utilizados apenas neste estudo.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Efeito dos polimorfismos nos genes da leptina e do receptor da leptina sobre a compulsão alimentar em crianças e adolescentes obesos". Eu discuti com o Dr. Marcio Corrêa Mancini sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação é isenta de despesas e que é garantido o acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente na participação deste estudo e que a retirada do meu consentimento pode ser feita a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter sido adquirido, ou no atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

Anexo C - Questionário da escala de compulsão alimentar periódica (ECAP)

ESCALA DE COMPULSÃO ALIMENTAR PERIÓDICA

BES (BINGE EATING SCALE)

Autores: Gormally J, Black S, Daston S, Rardin D. (1982).
Tradutores: Freitas S, Appolinario JC. (2001).

Nome: _____ Data: ____/____/____

Lista de verificação dos hábitos alimentares

Instruções:

Você encontrará abaixo grupos de afirmações numeradas. Leia todas as afirmações em cada grupo e marque, nesta folha, aquela que melhor descreve o modo como você se sente em relação aos problemas que tem para controlar seu comportamento alimentar.

# 1 () 1. Eu não me sinto constrangido(a) com o meu peso ou o tamanho do meu corpo quando estou com outras pessoas. () 2. Eu me sinto preocupado(a) em como pareço para os outros, mas isto, normalmente, não me faz sentir desapontado(a) comigo mesmo(a). () 3. Eu fico mesmo constrangido(a) com a minha aparência e o meu peso, o que me faz sentir desapontado(a) comigo mesmo(a). () 4. Eu me sinto muito constrangido(a) com o meu peso e, freqüentemente, sinto muita vergonha e desprezo por mim mesmo(a). Tento evitar contatos sociais por causa desse constrangimento. # 2 () 1. Eu não tenho nenhuma dificuldade para comer devagar, de maneira apropriada. () 2. Embora pareça que eu devore os alimentos, não acabo me sentindo empanturrado(a) por comer demais. () 3. Às vezes tendo a comer rapidamente, sentindo-me então desconfortavelmente cheio(a) depois. () 4. Eu tenho o hábito de engolir minha comida sem realmente mastigá-la. Quando isto acontece, em geral me sinto desconfortavelmente empanturrado(a) por ter comido demais. # 3 () 1. Eu me sinto capaz de controlar meus impulsos para comer, quando eu quero. () 2. Eu sinto que tenho falhado em controlar meu comportamento alimentar mais do que a média das pessoas. () 3. Eu me sinto totalmente incapaz de controlar meus impulsos para comer. () 4. Por me sentir tão incapaz de controlar meu comportamento alimentar, entro em desespero tentando manter o controle. # 4 () 1. Eu não tenho o hábito de comer quando estou chateado(a). () 2. Às vezes eu como quando estou chateado(a) mas, freqüentemente, sou capaz de me ocupar e afastar minha mente da comida. () 3. Eu tenho o hábito regular de comer quando estou chateado(a) mas, de vez em quando, posso usar alguma outra atividade para afastar minha mente da comida. () 4. Eu tenho o forte hábito de comer quando estou chateado(a). Nada parece me ajudar a parar com esse hábito. # 5 () 1. Normalmente quando como alguma coisa é porque estou fisicamente com fome. () 2. De vez em quando como alguma coisa por impulso, mesmo quando não estou realmente com fome. () 3. Eu tenho o hábito regular de comer alimentos que realmente não aprecio para satisfazer uma sensação de fome, mesmo que fisicamente eu não necessite de comida. () 4. Mesmo que não esteja fisicamente com fome, tenho uma sensação de fome em minha boca que somente parece ser satisfeita quando eu como um alimento, tipo um sanduíche, que enche a minha boca. Às vezes, quando eu como o alimento para satisfazer minha "fome na boca", em seguida eu o cuspo, assim não ganharei peso.	# 6 () 1. Eu não sinto qualquer culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais. () 2. De vez em quando sinto culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais. () 3. Quase o tempo todo sinto muita culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais. # 7 () 1. Eu não perco o controle total da minha alimentação quando estou em dieta, mesmo após períodos em que como demais. () 2. Às vezes, quando estou em dieta e como um alimento proibido, sinto como se tivesse estragado tudo e como ainda mais. () 3. Frequentemente, quando como demais durante uma dieta, tenho o hábito de dizer para mim mesmo(a): "agora que estraguei tudo, porque não irei até o fim". Quando isto acontece, eu como ainda mais. () 4. Eu tenho o hábito regular de começar dietas rigorosas por mim mesmo(a), mas quebro as dietas entrando numa compulsão alimentar. Minha vida parece ser "uma festa" ou "um morrer de fome". # 8 () 1. Eu raramente como tanta comida a ponto de me sentir desconfortavelmente empanturrado(a) depois. () 2. Normalmente, cerca de uma vez por mês, como uma tal quantidade de comida que acabo me sentindo muito empanturrado(a). () 3. Eu tenho períodos regulares durante o mês, quando como grandes quantidades de comida, seja na hora das refeições, seja nos lanches. () 4. Eu como tanta comida que, regularmente, me sinto bastante desconfortável depois de comer e, algumas vezes, um pouco enjoado(a). # 9 () 1. Em geral, minha ingestão calórica não sobe a níveis muito altos, nem desce a níveis muito baixos. () 2. Às vezes, depois de comer demais, tento reduzir minha ingestão calórica para quase nada, para compensar o excesso de calorias que ingeri. () 3. Eu tenho o hábito regular de comer demais durante a noite. Parece que a minha rotina não é estar com fome de manhã, mas comer demais à noite. () 4. Na minha vida adulta tenho tido períodos, que duram semanas, nos quais praticamente me mato de fome. Isto se segue a períodos em que como demais. Parece que vivo uma vida de "festa" ou de "morrer de fome". # 10 () 1. Normalmente eu sou capaz de parar de comer quando quero. Eu sei quando "já chega". () 2. De vez em quando, eu tenho uma compulsão para comer que parece que não posso controlar. () 3. Frequentemente tenho fortes impulsos para comer que parece que não sou capaz de controlar, mas, em outras ocasiões, posso controlar meus impulsos para comer. () 4. Eu me sinto incapaz de controlar impulsos para comer. Eu tenho medo de não ser capaz de parar de comer por vontade própria.

#11

- () 1. Eu não tenho problema algum para parar de comer quando me sinto cheio(a).
- () 2. Eu, normalmente, posso parar de comer quando me sinto cheio(a) mas, de vez em quando, comer demais me deixa desconfortavelmente empanturrado(a).
- () 3. Eu tenho um problema para parar de comer uma vez que eu tenha começado e, normalmente, sinto-me desconfortavelmente empanturrado(a) depois que faço uma refeição.
- () 4. Por eu ter o problema de não ser capaz de parar de comer quando quero, às vezes tenho que provocar o vômito, usar laxativos e/ou diuréticos para aliviar minha sensação de empanturramento.

#12

- () 1. Parece que eu como tanto quando estou com os outros (reuniões familiares, sociais), como quando estou sozinho(a).
- () 2. Às vezes, quando eu estou com outras pessoas, não como tanto quanto eu quero comer porque me sinto constrangido(a) com o meu comportamento alimentar.
- () 3. Frequentemente eu como só uma pequena quantidade de comida quando outros estão presentes, pois me sinto muito embaraçado(a) com o meu comportamento alimentar.
- () 4. Eu me sinto tão envergonhado(a) por comer demais que escolho horas para comer demais quando sei que ninguém me verá. Eu me sinto como uma pessoa que se esconde para comer.

#13

- () 1. Eu faço três refeições ao dia com apenas um lanche ocasional entre as refeições.
- () 2. Eu faço três refeições ao dia mas, normalmente, também lancha entre as refeições.
- () 3. Quando eu faço lanches pesados, tenho o hábito de pular as refeições regulares.
- () 4. Há períodos regulares em que parece que eu estou continuamente comendo, sem refeições planejadas.

#14

- () 1. Eu não penso muito em tentar controlar impulsos indesejáveis para comer.
- () 2. Pelo menos, em algum momento, sinto que meus pensamentos estão "pré-ocupados" com tentar controlar meus impulsos para comer.
- () 3. Frequentemente, sinto que gasto muito tempo pensando no quanto comi ou tentando não comer mais.
- () 4. Parece, para mim, que a maior parte das horas que passo acordado(a) estão "pré-ocupadas" por pensamentos sobre comer ou não comer. Sinto como se eu estivesse constantemente lutando para não comer.

#15

- () 1. Eu não penso muito sobre comida.
- () 2. Eu tenho fortes desejos por comida, mas eles só duram curtos períodos de tempo.
- () 3. Há dias em que parece que eu não posso pensar em mais nada a não ser comida.
- () 4. Na maioria dos dias, meus pensamentos parecem estar "pré-ocupados" com comida. Sinto como se eu vivesse para comer.

#16

- () 1. Eu normalmente sei se estou ou não fisicamente com fome. Eu como a porção certa de comida para me satisfazer.
- () 2. De vez em quando eu me sinto em dúvida para saber se estou ou não fisicamente com fome. Nessas ocasiões é difícil saber quanto eu deveria comer para me satisfazer.
- () 3. Mesmo que se eu pudesse saber quantas calorias eu deveria ingerir, não teria idéia alguma de qual seria a quantidade "normal" de comida para mim.

[illegible]

Anexo D – Protocolo para coleta de amostra de saliva Oragene DNA G-500®

INSTRUÇÕES DE USO

Leia todas as instruções antes da coleta

Precauções durante a coleta:

NÃO coma, beba, fume ou masque chiclete por 30 minutos antes de fornecer a amostra de saliva.

NÃO remova o filme plástico da tampa do funil.

Aplicação: Para a coleta de DNA humano em amostras de saliva.

Conteúdo: O kit contém líquido estabilizante.

Avisos e precauções: Se o líquido estabilizante entrar em contato com a pele ou com os olhos, lave-os com água. Não ingerir. Veja MSDS em www.dnagenotek.com.

Tampa pequena, perigo de asfixia.

Armazenamento: 15°C a 30°C

Resumo e explicação do kit:

Oragene-DNA é um kit de autocoleta que proporciona os materiais e as instruções para a coleta e estabilização de espécimes de saliva.

Legenda de embalagem:

- Consulte o guia da embalagem
- Coletar a saliva até (usar até)
- Dispositivo médico de diagnóstico in-vitro
- Número de catálogo
- Marcação CE
- Cuidado, consulte instruções de uso
- Instruções de armazenamento
- Representante autorizado
- Fabricante

Procedimento:

A maioria das pessoas leva de 2 a 5 minutos para fornecer uma amostra de saliva seguindo as etapas 1 a 5.

- 1** Cuspa no funil até a quantidade de saliva líquida (não as bolhas) alcançar o nível de enchimento exibido na figura nº 1.

- 2** Segure o tubo na vertical com uma mão. Feche a tampa com a outra mão (conforme mostrado) empurrando a tampa firmemente até ouvir um forte estalo. O líquido na tampa será liberado no tubo para se misturar à saliva. Certifique-se de que a tampa está completamente fechada.

- 3** Segure o tubo na vertical. Desenroscar o funil do tubo.

- 4** Use a tampa pequena para fechar o tubo.

- 5** Agite o tubo tampado por 5 segundos. Descarte ou recicle o funil.

Para uso de diagnóstico in-vitro

DNAGENOTEK

Fabricado no Canadá
DNA Genotek Inc.
Ottawa, ON, Canadá K2K 1L1

*Amostras superiores
Desempenho comprovado*

Tel: 613.723.5757
Info@dnagenotek.com
www.dnagenotek.com

Emergo Europe, Molenstraat 15, 2513 BH The Hague, Holanda
Tel: (+31) (0) 70 345-8570 Fax: (+31) (0) 70 346-7299

Oragene®DNA não está à venda nos Estados Unidos.
*Oragene é uma marca comercial registrada da DNA Genotek Inc.
É possível que alguns produtos da DNA Genotek não estejam disponíveis em todas as regiões geográficas.
Para obter detalhes, entre em contato com o seu representante de vendas.
Todos os protocolos, artigos científicos e notas de aplicação da DNA Genotek estão disponíveis na seção de suporte em nosso site www.dnagenotek.com.

Patente (www.dnagenotek.com/legal/notes)
© 2013 DNA Genotek Inc., uma subsidiária da OraSure Technologies, Inc. Todos os direitos reservados.
PD-PR-00298 (BZ - Portuguese) Issue 1/2013-01

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

- 1 World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2000; 894: I-XII, 1-253
- 2 Han JC, Lawlor DA, Kimm SY. Childhood obesity. *Lancet.* 2010; 375: 1737-48.
- 3 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE 2010.
- 4 Guo SS, Chumlea WC. Tracking of body mass index in children in relation to overweight in adulthood. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70: 145S-8S.
- 5 Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med.* 1997; 337: 869-73.
- 6 Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Predictability of childhood adiposity and insulin for developing insulin resistance syndrome (syndrome X) in young adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Diabetes.* 2002; 51: 204-9.
- 7 Dietz WH. Health consequences of obesity in youth: childhood predictors of adult disease. *Pediatrics.* 1998; 101: 518-25.
- 8 Luder E, Melnik TA, DiMaio M. Association of being overweight with greater asthma symptoms in inner city black and Hispanic children. *J Pediatr.* 1998; 132: 699-703.
- 9 Mallory GB, Jr., Fiser DH, Jackson R. Sleep-associated breathing disorders in morbidly obese children and adolescents. *J Pediatr.* 1989; 115: 892-7.
- 10 Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH. Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *N Engl J Med.* 1992; 327: 1350-5.
- 11 Lombard CB, Deeks AA, Teede HJ. A systematic review of interventions aimed at the prevention of weight gain in adults. *Public Health Nutr.* 2009; 12: 2236-46.

- 12 Yanovski SZ, Nelson JE, Dubbert BK, Spitzer RL. Association of binge eating disorder and psychiatric comorbidity in obese subjects. *Am J Psychiatry*. 1993; 150: 1472-9.
- 13 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th edition. Arlington, VA: American Psychiatric Publishing; 2013.
- 14 Spitzer RL, Yanovski S, Wadden T, Wing R, Marcus MD, Stunkard A, *et al*. Binge eating disorder: its further validation in a multisite study. *Int J Eat Disord*. 1993; 13: 137-53.
- 15 Stunkard AJ, Allison KC. Binge eating disorder: disorder or marker? *Int J Eat Disord*. 2003; 34 Suppl: S107-16.
- 16 Stunkard A. Binge eating disorder and the treatment of obesity. *Obes Res*. 1994; 2: 279-80.
- 17 Duchesne M, de Oliveira Falcone EM, de Freitas SR, D'Augustin JF, Marinho V, Appolinario JC. Assessment of interpersonal skills in obese women with binge eating disorder. *J Health Psychol*. 2012; 17: 1065-75.
- 18 Fandiño J, Moreira RO, Preissler C, Gaya CW, Papelbaum M, Coutinho WF, *et al*. Impact of binge eating disorder in the psychopathological profile of obese women. *Compr Psychiatry*. 2010; 51: 110-4.
- 19 Borges MB, Jorge MR, Morgan CM, Da Silveira DX, Custódio O. Binge-eating disorder in Brazilian women on a weight-loss program. *Obes Res*. 2002; 10: 1127-34.
- 20 Eldredge KL, Stewart Agras W, Arnow B, Telch CF, Bell S, Castonguay L, *et al*. The effects of extending cognitive-behavioral therapy for binge eating disorder among initial treatment nonresponders. *Int J Eat Disord*. 1997; 21: 347-52.
- 21 Ricca V, Mannucci E, Moretti S, Di Bernardo M, Zucchi T, Cabras PL, *et al*. Screening for binge eating disorder in obese outpatients. *Compr Psychiatry*. 2000; 41: 111-5.
- 22 Lofrano-Prado MC, Prado Wld, de Piano A, Tock L, Caranti DA, Nascimento CMOD, *et al*. Eating disorders in adolescents: Correlations between symptoms and central control of eating behavior. *Eat Behav*. 2011; 12: 78-82.
- 23 Bruce B, Wilfley D. Binge eating among the overweight population: a serious and prevalent problem. *J Am Diet Assoc*. 1996; 96: 58-61.
- 24 de Souza Ferreira JE, da Veiga GV. Eating disorder risk behavior in Brazilian adolescents from low socio-economic level. *Appetite*. 2008; 51: 249-55.
- 25 Wolfe BE, Baker CW, Smith AT, Kelly-Weeder S. Validity and utility of the current definition of binge eating. *Int J Eat Disord*. 2009; 42: 674-86.

- 26 Hoerr SL, Bokram R, Lugo B, Bivins T, Keast DR. Risk for disordered eating relates to both gender and ethnicity for college students. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21: 307-14.
- 27 Tremblay L, Lariviere M. The influence of puberty onset, Body Mass Index, and pressure to be thin on disordered eating behaviors in children and adolescents. *Eating Behaviors.* 2009; 10: 75-83.
- 28 Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1953; 140: 578-96.
- 29 Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998; 395: 763-70.
- 30 Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372: 425-32.
- 31 Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science.* 1995; 269: 543-6.
- 32 Trayhurn P. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta Physiol Scand.* 2005; 184: 285-93.
- 33 Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest.* 1996; 98: 1101-6.
- 34 Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26: 1407-33.
- 35 Morris DL, Rui L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 297: E1247-59.
- 36 van den Top M, Lee K, Whyment AD, Blanks AM, Spanswick D. Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Nat Neurosci.* 2004; 7: 493-4.
- 37 Tong Q, Ye CP, Jones JE, Elmquist JK, Lowell BB. Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. *Nat Neurosci.* 2008; 11: 998-1000.
- 38 Seals DR, Bell C. Chronic sympathetic activation: consequence and cause of age-associated obesity? *Diabetes.* 2004; 53: 276-84.
- 39 Nillni EA, Vaslet C, Harris M, Hollenberg A, Bjorbak C, Flier JS. Leptin regulates prothyrotropin-releasing hormone biosynthesis. Evidence for direct and indirect pathways. *J Biol Chem.* 2000; 17: 36124-33.

- 40 Wu Q, Boyle MP, Palmiter RD. Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to the parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell*. 2009; 137: 1225-34.
- 41 Fulton S, Pissios P, Manchon RP, Stiles L, Frank L, Pothos EN, *et al*. Leptin regulation of the mesoaccumbens dopamine pathway. *Neuron*. 2006; 51: 811-22.
- 42 Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, *et al*. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*. 1995; 83: 1263-71.
- 43 Hileman SM, Pierroz DD, Masuzaki H, Bjorbaek C, El-Haschimi K, Banks WA, *et al*. Characterization of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. *Endocrinology*. 2002; 143: 775-83.
- 44 van de Wall E, Leshan R, Xu AW, Balthasar N, Coppari R, Liu SM, *et al*. Collective and individual functions of leptin receptor modulated neurons controlling metabolism and ingestion. *Endocrinology*. 2008; 149: 1773-85.
- 45 Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J*. 2006; 393: 7-20.
- 46 Sousa M, Brás-Silva C, Leite-Moreira A. O papel da leptina na regulação da homeostasia energética. *Acta Médica Portuguesa*. 2009; 22: 291-8.
- 47 Wolk R, Berger P, Lennon RJ, Brilakis ES, Johnson BD, Somers VK. Plasma leptin and prognosis in patients with established coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44: 1819-24.
- 48 Berglund ED, Vianna CR, Donato J Jr, *et al*. Direct leptin action on POMC neurons regulates glucose homeostasis and hepatic insulin sensitivity in mice. *J Clin Invest*. 2012; 122: 1000-9.
- 49 Eikelis N, Schlaich M, Aggarwal A, Kaye D, Esler M. Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system. *Hypertension*. 2003; 41: 1072-9.
- 50 Shankar A, Xiao J. Positive relationship between plasma leptin level and hypertension. *Hypertension*. 2010; 56: 623-8.
- 51 Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension*. 1998; 31: 409-14.
- 52 do Carmo JM, da Silva AA, Cai Z, Lin S, Dubinon JH, Hall JE. Control of blood pressure, appetite, and glucose by leptin in mice lacking leptin receptors in proopiomelanocortin neurons. *Hypertension*. 2011; 57: 918-26.
- 53 Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ, *et al*. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J*. 1998; 12: 57-65.

- 54 Unger RH. Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2003; 144: 5159-65.
- 55 Monteleone P, Di Lieto A, Tortorella A, Longobardi N, Maj M. Circulating leptin in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa or binge-eating disorder: relationship to body weight, eating patterns, psychopathology and endocrine changes. *Psychiatry Research*. 2000; 94: 121-29.
- 56 Adami GF, Campostano A, Cella F, Scopinaro N. Serum leptin concentration in obese patients with binge eating disorder. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26: 1125-8.
- 57 d'Amore A, Massignan C, Montera P, Moles A, De Lorenzo A, Scucchi S. Relationship between dietary restraint, binge eating, and leptin in obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25: 373-7.
- 58 Calandra C, Musso F, Musso R. The role of leptin in the etiopathogenesis of anorexia nervosa and bulimia. *Eat Weight Disord*. 2003; 8: 130-7.
- 59 Jimerson DC, Mantzoros C, Wolfe BE, Metzger ED. Decreased serum leptin in bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 4511-4.
- 60 Brewerton TD, Lessem MD, Kennedy A, Garvey WT. Reduced plasma leptin concentrations in bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*. 2000; 25: 649-58.
- 61 Hermsdorff HHM, Vieira MAdQM, Monteiro JBR. Leptina e sua influência na patofisiologia de distúrbios alimentares. *Rev Nutr*. 2006; 19: 369-79.
- 62 Monteleone P, Tortorella A, Castaldo E, Di Filippo C, Maj M. The Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene is significantly associated with binge eating disorder. *Psychiatr Genet*. 2007; 17: 13-6.
- 63 Lubrano-Berthelier C, Dubern B, Lacorte JM, Picard F, Shapiro A, Zhang S, *et al*. Melanocortin 4 receptor mutations in a large cohort of severely obese adults: prevalence, functional classification, genotype-phenotype relationship, and lack of association with binge eating. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91: 1811-8.
- 64 Potoczna N, Branson R, Kral JG, Piec G, Steffen R, Ricklin T, *et al*. Gene variants and binge eating as predictors of comorbidity and outcome of treatment in severe obesity. *J Gastrointest Surg*. 2004; 8: 971-81.
- 65 Branson R, Potoczna N, Kral JG, Lentes KU, Hoehe MR, Horber FF. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N Engl J Med*. 2003; 348: 1096-103.
- 66 Davis C, Zai C, Levitan RD, Kaplan AS, Carter JC, Reid-Westoby C, *et al*. Opiates, overeating and obesity: a psychogenetic analysis. *Int J Obes (Lond)* 2011; 35: 1347-54.

- 67 Monteleone P, Zanardini R, Tortorella A, Gennarelli M, Castaldo E, Canestrelli B, *et al.* The 196G/A (val66met) polymorphism of the BDNF gene is significantly associated with binge eating behavior in women with bulimia nervosa or binge eating disorder. *Neurosci Lett.* 2006; 406: 133-7.
- 68 Monteleone P, Tortorella A, Castaldo E, Maj M. Association of a functional serotonin transporter gene polymorphism with binge eating disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2006; 141B: 7-9.
- 69 Tanofsky-Kraff M, Han JC, Anandalingam K, Shomaker LB, Columbo KM, Wolkoff LE, *et al.* The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90: 1483-8.
- 70 Karvonen MK, Pesonen U, Heinonen P, Laakso M, Rissanen A, Naukkarinen H, *et al.* Identification of new sequence variants in the leptin gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83: 3239-42.
- 71 Poitou C, Lacorte JM, Coupaye M, Bertrais S, Bedel JF, Lafon N, *et al.* Relationship between single nucleotide polymorphisms in leptin, IL6 and adiponectin genes and their circulating product in morbidly obese subjects before and after gastric banding surgery. *Obes Surg.* 2005; 15: 11-23.
- 72 Iciek R, Wender-Ozegowska E, Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K, Sodowski K, Pietryga M, *et al.* Leptin gene, leptin gene polymorphisms and body weight in pregnant women with diabetes mellitus type I. *J Physiol Pharmacol.* 2008; 59 Suppl 4: 19-31.
- 73 Sahin DS, Tumer C, Demir C, Celik MM, Celik M, Ucar E, *et al.* Association with leptin gene C.-2548 G>A polymorphism, serum leptin levels, and body mass index in Turkish obese patients. *Cell Biochem Biophys.* 2013; 65: 243-7.
- 74 Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the *LEP* gene with overweight. *Ann Hum Genet.* 2000; 64: 391-4.
- 75 Hoffstedt J, Eriksson P, Mottagui-Tabar S, Arner P. A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res.* 2002; 34: 355-9.
- 76 Hinuy HM, Hirata MH, Forti N, Diamant J, Sampaio MF, Armaganijan D, *et al.* Leptin G-2548A promoter polymorphism is associated with increased plasma leptin and BMI in Brazilian women. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008; 52: 611-6.
- 77 Le Stunff C, Le Bihan C, Schork NJ, Bougneres P. A common promoter variant of the leptin gene is associated with changes in the relationship between serum leptin and fat mass in obese girls. *Diabetes.* 2000; 49: 2196-200.
- 78 Ben Ali S, Kallel A, Ftouhi B, Sediri Y, Feki M, Slimane H, *et al.* Association of G-2548A *LEP* polymorphism with plasma leptin levels in Tunisian obese patients. *Clin Biochem.* 2009; 42: 584-8.

- 79 Li WD, Reed DR, Lee JH, Xu W, Kilker RL, Sodam BR, *et al.* Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet.* 1999; 63: 227-34.
- 80 Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C. Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet.* 1997; 6: 675-9.
- 81 Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. 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.* 2001; 86: 4434-9.
- 82 van Rossum CT, Hoebee B, van Baak MA, Mars M, Saris WH, Seidell JC. Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obes Res.* 2003; 11: 377-86.
- 83 Kilpelainen TO, Lakka TA, Laaksonen DE, Mager U, Salopuro T, Kubaszek A, *et al.* Interaction of single nucleotide polymorphisms in *ADRB2*, *ADRB3*, *TNF*, *IL6*, *IGF1R*, *LIPC*, *LEPR*, and *GHRL* with physical activity on the risk of type 2 diabetes mellitus and changes in characteristics of the metabolic syndrome: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Metabolism.* 2008; 57: 428-36.
- 84 Salopuro T, Pulkkinen L, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, *et al.* Genetic variation in leptin receptor gene is associated with type 2 diabetes and body weight: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Int J Obes (Lond).* 2005; 29: 1245-51.
- 85 Saukko M, Kesaniemi YA, Ukkola O. Leptin receptor Lys109Arg and Gln223Arg polymorphisms are associated with early atherosclerosis. *Metab Syndr Relat Disord.* 2010; 8: 425-30.
- 86 Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, Perusse L, Lindell K, *et al.* Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 3126-31.
- 87 Heo M, Leibel RL, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, *et al.* Pooling analysis of genetic data: the association of leptin receptor (*LEPR*) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics.* 2001; 159: 1163-78.
- 88 Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, *et al.* A meta-analytic investigation of linkage and association of common leptin receptor (*LEPR*) polymorphisms with body mass index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26: 640-6.
- 89 Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet.* 2001; 108: 233-6.

- 90 Ben Ali S, Kallel A, Sediri Y, Ftouhi B, Feki M, Slimene H, *et al.* *LEPR* p.Q223R Polymorphism influences plasma leptin levels and body mass index in Tunisian obese patients. *Arch Med Res.* 2009; 40: 186-90.
- 91 Ogawa T, Hirose H, Yamamoto Y, Nishikai K, Miyashita K, Nakamura H, *et al.* Relationships between serum soluble leptin receptor level and serum leptin and adiponectin levels, insulin resistance index, lipid profile, and leptin receptor gene polymorphisms in the Japanese population. *Metabolism.* 2004; 53: 879-85.
- 92 Popruk S, Tungtrongchitr R, Petmitr S, Pongpaew P, Harnroongroj T, Pooudong S, *et al.* Leptin, soluble leptin receptor, lipid profiles, and *LEPR* gene polymorphisms in Thai children and adolescents. *Int J Vitam Nutr Res.* 2008; 78: 9-15.
- 93 Echwald SM, Sorensen TD, Sorensen TI, Tybjaerg-Hansen A, Andersen T, Chung WK, *et al.* Amino acid variants in the human leptin receptor: lack of association to juvenile onset obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 233: 248-52.
- 94 Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, Gagnon J, Perusse L, Chagnon M, *et al.* Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 29-34.
- 95 de Luis Roman D, de la Fuente RA, Sagrado MG, Izaola O, Vicente RC. Leptin receptor Lys656Asn polymorphism is associated with decreased leptin response and weight loss secondary to a lifestyle modification in obese patients. *Arch Med Res.* 2006; 37: 854-9.
- 96 de Luis DA, Aller R, Izaola O, Sagrado MG, Conde R. Influence of Lys656Asn polymorphism of leptin receptor gene on leptin response secondary to two hypocaloric diets: a randomized clinical trial. *Ann Nutr Metab.* 2008; 52: 209-14.
- 97 de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007; 85: 660-7.
- 98 Goldstone AP, Beales PL. Genetic obesity syndromes. *Front Horm Res.* 2008; 36: 37-60.
- 99 Ogden CL, Kuczmarski RJ, Flegal KM, Mei Z, Guo S, Wei R, *et al.* Centers for Disease Control and Prevention 2000 growth charts for the United States: improvements to the 1977 National Center for Health Statistics version. *Pediatrics.* 2002; 109: 45-60.
- 100 Cole TJ. The LMS method for constructing normalized growth standards. *Eur J Clin Nutr.* 1990; 44: 45-60.
- 101 NIH Consensus Statement. Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement. National Institutes of Health Technology Assessment Conference Statement. *Nutrition.* 1996; 12: 749-62.

-
-
- 102 Kushner RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr.* 1992; 11: 199-209.
- 103 Elia M. Body composition analysis: an evaluation of 2 component models, multicomponent models and bedside techniques. *Clin Nutr.* 1992; 11: 114-27.
- 104 Topouchian JA, El Assaad MA, Orobinskaia LV, El Feghali RN, Asmar RG. Validation of two devices for self-measurement of brachial blood pressure according to the International Protocol of the European Society of Hypertension: the SEINEX SE-9400 and the Microlife BP 3AC1-1. *Blood Press Monit.* 2005; 10: 325-31.
- 105 Thompson AM, Eguchi K, Reznik ME, Shah SS, Pickering TG. Validation of an oscillometric home blood pressure monitor in an end-stage renal disease population and the effect of arterial stiffness on its accuracy. *Blood Press Monit.* 2007; 12: 227-32.
- 106 The Sixth Report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med.* 1997; 157: 2413-46.
- 107 National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics.* 2004; 114: 555-76.
- 108 Falkner B, Gidding SS, Portman R, Rosner B. Blood pressure variability and classification of prehypertension and hypertension in adolescence. *Pediatrics.* 2008; 122: 238-42.
- 109 Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents; National Heart, Lung, and Blood Institute. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics.* 2011; 128: S213-56.
- 110 Tanner JM. Normal growth and techniques of growth assessment. *Clin Endocrinol Metab.* 1986; 15: 411-51.
- 111 Tanner JM. Growth at Adolescence. Oxford: Blackwell Science 1962.
- 112 Organization WH. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1995; 854: 1-452.
- 113 Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, *et al.* Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2003; 26: 3160-7.
- 114 American Diabetes Association (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2014; 37: S14-S80.

- 115 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28: 412-9.
- 116 Kwiterovich PO. Recognition and management of dyslipidemia in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93: 4200-9.
- 117 Simão AF, Precoma DB, Andrade JP, Correa Filho H, Saraiva JFK, Oliveira GMM, *et al*. I Diretriz Brasileira de Prevenção Cardiovascular. *Arq Bras Cardiol*. 2013; 101: 1-63.
- 118 Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18: 499-502.
- 119 Gormally J, Black S, Daston S, Rardin D. The assessment of binge eating severity among obese persons. *Addict Behav*. 1982; 7: 47-55.
- 120 Freitas S, Lopes CS, Coutinho W, Appolinario JC. Tradução e adaptação para o português da Escala de Compulsão Alimentar Periódica. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2001; 23: 215-20.
- 121 Gleaves DH, Williamson DA, Barker SE. Additive effects of mood and eating forbidden foods upon the perceptions of overeating and binging in bulimia nervosa. *Addict Behav*. 1993; 18: 299-309.
- 122 Marcus MD, Moulton MM, Greeno CG. Binge eating onset in obese patients with binge eating disorder. *Addict Behav*. 1995; 20: 747-55.
- 123 Freitas SR, Lopes CS, Appolinario JC, Coutinho W. The assessment of binge eating disorder in obese women: a comparison of the binge eating scale with the structured clinical interview for the DSM-IV. *Eat Behav*. 2006; 7: 282-9.
- 124 Greeno CG, Marcus MD, Wing RR. Diagnosis of binge eating disorder: discrepancies between a questionnaire and clinical interview. *Int J Eat Disord*. 1995; 17: 153-60.
- 125 Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988; 16: 1215.
- 126 Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, *et al*. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res*. 2001; 29: 308-11.
- 127 Gaunt TR, Rodríguez S, Day IN. Cubic exact solutions for the estimation of pairwise haplotype frequencies: implications for linkage disequilibrium analyses and a web tool 'CubeX'. *BMC Bioinformatics*. 2007; 8: 428.
- 128 Stephens M, Donnelly P. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet*. 2003; 73: 1162-9.

-
-
- 129 Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet.* 2001; 38: 978-89.
- 130 Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, *et al.* Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med.* 2004; 350: 2362-74.
- 131 Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1999; 104: 787-94.
- 132 Jellinger PS, Smith DA, Mehta AE, Ganda O, Handelsman Y, Rodbard HW, *et al.* American Association of Clinical Endocrinologists' Guidelines for Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis. *Endocr Pract.* 2012; 18 Suppl 1: 1-78.
- 133 Zeferino AMB, Barros Filho AA, Bettiol H, Barbieri MA. Acompanhamento do crescimento. *J Pediatr (Rio J).* 2003; 79: S23-S32.
- 134 Garcia-Mayor RV, Andrade MA, Rios M, Lage M, Dieguez C, Casanueva FF. Serum leptin levels in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones, and pubertal stage. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 2849-55.
- 135 Martin LJ, Mahaney MC, Almasy L, MacCluer JW, Blangero J, Jaquish CE, *et al.* Leptin's sexual dimorphism results from genotype by sex interactions mediated by testosterone. *Obes Res.* 2002; 10: 14-21.
- 136 Saad MF, Damani S, Gingerich RL, Riad-Gabriel MG, Khan A, Boyadjian R, *et al.* Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 579-84.
- 137 Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med.* 1996; 2: 589-93.
- 138 Lourenço BH, Arthur T, Rodrigues MD, Guazzelli I, Frazzatto E, Deram S, *et al.* Binge eating symptoms, diet composition and metabolic characteristics of obese children and adolescents. *Appetite.* 2008; 50: 223-30.
- 139 Nicholls D, Bryant-Waugh R. Eating disorders of infancy and childhood: definition, symptomatology, epidemiology, and comorbidity. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.* 2009; 18: 17-30.
- 140 Goldschmidt AB, Jones M, Manwaring JL, Luce KH, Osborne MI, Cuning D, *et al.* The clinical significance of loss of control over eating in overweight adolescents. *Int J Eat Disord.* 2008; 41: 153-8.
- 141 Decaluwe V, Braet C, Fairburn CG. Binge eating in obese children and adolescents. *Int J Eat Disord.* 2003; 33: 78-84.

- 142 Telch CF, Agras WS. Obesity, binge eating and psychopathology: are they related? *Int J Eat Disord.* 1994; 15: 53-61.
- 143 Allen KL, Byrne SM, La Puma M, McLean N, Davis EA. The onset and course of binge eating in 8- to 13-year-old healthy weight, overweight and obese children. *Eat Behav.* 2008; 9: 438-46.
- 144 Goossens L, Braet C, Bosmans G. Relations of dietary restraint and depressive symptomatology to loss of control over eating in overweight youngsters. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2010; 19: 587-96.
- 145 Villarejo C, Fernández-Aranda F, Jiménez-Murcia S, Peñas-Lledó E, Granero R, Penelo E, *et al.* Lifetime obesity in patients with eating disorders: increasing prevalence, clinical and personality correlates. *Eur Eat Disord Rev.* 2012; 20: 250-4.
- 146 Nicholls DE, Lynn R, Viner RM. Childhood eating disorders: British national surveillance study. *Br J Psychiatry.* 2011; 198: 295-301.
- 147 Pinhas L, Morris A, Crosby RD, Katzman DK. Incidence and age-specific presentation of restrictive eating disorders in children: a Canadian Paediatric Surveillance Program study. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011; 165: 895-9.
- 148 Ashwell M, Hsieh SD. Six reasons why the waist-to-height ratio is a rapid and effective global indicator for health risks of obesity and how its use could simplify the international public health message on obesity. *Int J Food Sci Nutr.* 2005; 56: 303-7.
- 149 Hsieh SD, Muto T. The superiority of waist-to-height ratio as an anthropometric index to evaluate clustering of coronary risk factors among non-obese men and women. *Prev Med.* 2005; 40: 216-20.
- 150 Bosy-Westphal A, Geisler C, Onur S, Korth O, Selberg O, Schrezenmeir J, *et al.* Value of body fat mass vs anthropometric obesity indices in the assessment of metabolic risk factors. *Int J Obes (Lond).* 2006; 30: 475-83.
- 151 Savva SC, Tornaritis M, Savva ME, Kourides Y, Panagi A, Silikiotou N, *et al.* Waist circumference and waist-to-height ratio are better predictors of cardiovascular disease risk factors in children than body mass index. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24: 1453-8.
- 152 Khoury M, Manlhiot C, McCrindle BW. Role of the Waist/Height Ratio in the Cardiometabolic Risk Assessment of Children Classified by Body Mass Index. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 62: 742-51.
- 153 Kahn HS, Imperatore G, Cheng YJ. A population-based comparison of BMI percentiles and waist-to-height ratio for identifying cardiovascular risk in youth. *J Pediatr.* 2005; 146: 482-8.
- 154 Kromeyer-Hauschild K, Neuhauser H, Schaffrath Rosario A, Schienkiewitz A. Abdominal Obesity in German Adolescents Defined by Waist-to-Height Ratio and Its

- Association to Elevated Blood Pressure: The KiGGS Study. *Obes Facts*. 2013; 6: 165-75.
- 155 Brambilla P, Bedogni G, Heo M, Pietrobelli A. Waist circumference-to-height ratio predicts adiposity better than body mass index in children and adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2013.
- 156 Olza J, Aguilera CM, Gil-Campos M, Leis R, Bueno G, Valle M, *et al*. Waist-to-height ratio, inflammation and CVD risk in obese children. *Public Health Nutr*. 2014; 1-8.
- 157 Bravata DM, Wells CK, Concato J, Kernan WN, Brass LM, Gulanski BI. Two measures of insulin sensitivity provided similar information in a U.S. population. *J Clin Epidemiol*. 2004; 57: 1214-7.
- 158 Ritchie SA, Connell JM. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2007; 17: 319-26.
- 159 Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, *et al*. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. *Diabetologia*. 2001; 44: 312-9.
- 160 Tanofsky-Kraff M, McDuffie JR, Yanovski SZ, Kozlosky M, Schvey NA, Shomaker LB, *et al*. Laboratory assessment of the food intake of children and adolescents with loss of control eating. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89: 738-45.
- 161 Yanovski SZ, Leet M, Yanovski JA, Flood M, Gold PW, Kissileff HR, *et al*. Food selection and intake of obese women with binge-eating disorder. *Am J Clin Nutr*. 1992; 56: 975-80.
- 162 Theim KR, Tanofsky-Kraff M, Salaita CG, Haynos AF, Mirch MC, Ranzienhofer LM, *et al*. Children's descriptions of the foods consumed during loss of control eating episodes. *Eat Behav*. 2007; 8: 258-65.
- 163 White MA, Grilo CM. Psychometric properties of the Food Craving Inventory among obese patients with binge eating disorder. *Eat Behav*. 2005; 239: 239-45.
- 164 Guertin TL. Eating behavior of bulimics, self-identified binge eaters, and non-eating-disordered individuals: what differentiates these populations? *Clin Psychol Rev*. 1999; 19: 1-23.
- 165 Decaluwe V, Braet C. Prevalence of binge-eating disorder in obese children and adolescents seeking weight-loss treatment. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27: 404-9.
- 166 Russell PG. Neurobiology in the Treatment of Eating Disorders: Edited by Hans W. Hoek, Janet L. Treasure and Melanie A. Katzman. *Brit J Psychiat*. 2000; 176: 200.

- 167 Souto S, Ferro-Bucher JSN. Práticas indiscriminadas de dietas de emagrecimento e o desenvolvimento de transtornos alimentares. *Rev Nutr.* 2006; 19: 693-704.
- 168 Pivetta LA, Gonçalves-Silva RMV. Compulsão alimentar e fatores associados em adolescentes de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2010; 26: 337-46.
- 169 Bulik CM, Sullivan PF, Wade TD, Kendler KS. Twin studies of eating disorders: a review. *Int J Eat Disord.* 2000; 27: 1-20.
- 170 Root TL, Thornton LM, Lindroos AK, Stunkard AJ, Lichtenstein P, Pedersen NL, *et al.* Shared and unique genetic and environmental influences on binge eating and night eating: a Swedish twin study. *Eat Behav.* 2010; 11: 92-8.
- 171 Klump KL, Wonderlich S, Lehoux P, Lilienfeld LR, Bulik CM. Does environment matter? A review of nonshared environment and eating disorders. *Int J Eat Disord.* 2002; 31: 118-35.
- 172 Monteleone P, Maj M. Genetic susceptibility to eating disorders: associated polymorphisms and pharmacogenetic suggestions. *Pharmacogenomics.* 2008; 9: 1487-520.
- 173 Calati R, De Ronchi D, Bellini M, Serretti A. The 5-HTTLPR polymorphism and eating disorders: A meta-analysis. *Int J Eat Disord.* 2011; 44: 191-9.
- 174 Helder SG, Collier DA. The genetics of eating disorders. *Curr Top Behav Neurosci.* 2011; 6: 157-75.
- 175 Hinney A, Bornscheuer A, Depenbusch M, Mierke B, Tölle A, Middeke K, *et al.* No evidence for involvement of the leptin gene in anorexia nervosa, bulimia nervosa, underweight or early onset extreme obesity: identification of two novel mutations in the coding sequence and a novel polymorphism in the leptin gene linked upstream region. *Mol Psychiatry.* 1998; 3: 539-43.
- 176 Quinton ND, Meechan DW, Brown K, Eastwood H, Blakemore AI. Single nucleotide polymorphisms in the leptin receptor gene: studies in anorexia nervosa. *Psychiatr Genet.* 2004; 14: 191-4.
- 177 Bacanu SA, Bulik CM, Klump KL, Fichter MM, Halmi KA, Keel P, *et al.* Linkage analysis of anorexia and bulimia nervosa cohorts using selected behavioral phenotypes as quantitative traits or covariates. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2005; 139B: 61-8.
- 178 Ng ZY, Veerapen MK, Hon WM, Lim RL. Association of Leptin/Receptor and TNF- α gene variants with adolescent obesity in Malaysia. *Pediatr Int.* 2014.
- 179 Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the *LEP* gene with overweight. *Ann Hum Genet.* 2000; 64: 391-4.

-
-
- 180 Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Giraud V, Tuzet S, Petiet A, *et al.* Novel polymorphisms in the 5' region of the *LEP* gene: association with leptin levels and response to low-calorie diet in human obesity. *Diabetes*. 1998; 47: 487-9.
- 181 Riestra P, Garcia-Anguita A, Viturro E, Schoppen S, de Oya M, Garcés C. Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents. *Ann Hum Genet*. 2010; 74: 335-9.
- 182 Terrasi M, Fiorio E, Mercanti A, Koda M, Moncada CA, Sulkowski S, *et al.* Functional analysis of the -2548G/A leptin gene polymorphism in breast cancer cells. *Int J Cancer*. 2009; 125: 1038-44.
- 183 Bartella V, Cascio S, Fiorio E, Auriemma A, Russo A, Surmacz E. Insulin-dependent leptin expression in breast cancer cells. *Cancer Res*. 2008; 68: 4919-27.
- 184 Ginisty H, Amalric F, Bouvet P. Nucleolin functions in the first step of ribosomal RNA processing. *EMBO J*. 1998; 17: 1476-86.
- 185 Tsou JH, Chang KY, Wang WC, Tseng JT, Su WC, Hung LY, *et al.* Nucleolin regulates c-Jun/Sp1-dependent transcriptional activation of cPLA2alpha in phorbol ester-treated non-small cell lung cancer A549 cells. *Nucleic Acids Res*. 2008; 36: 217-27.
- 186 Gu P, Jiang W, Chen M, Lu B, Shao J, Du H, *et al.* Association of leptin receptor gene polymorphisms and essential hypertension in a Chinese population. *J Endocrinol Invest*. 2012; 35: 859-65.
- 187 Guizar-Mendoza JM, Amador-Licona N, Flores-Martinez SE, Lopez-Cardona MG, Ahuatzin-Tremery R, Sanchez-Corona J. Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *J Hum Hypertens* 2005; 341-6.
- 188 Masuo K, Straznicki NE, Lambert GW, Katsuya T, Sugimoto K, Rakugi H, *et al.* Leptin-receptor polymorphisms relate to obesity through blunted leptin-mediated sympathetic nerve activation in a Caucasian male population. *Hypertens Res*. 2008; 31: 1093-100.
- 189 Rahmouni K. Leptin-Induced Sympathetic Nerve Activation: Signaling Mechanisms and Cardiovascular Consequences in Obesity. *Curr Hypertens Rev*. 2010; 6: 104-209.
- 190 Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest*. 1997; 100: 270-8.
- 191 Hall JE, Brands MW, Hildebrandt DA, Kuo J, Fitzgerald S. Role of sympathetic nervous system and neuropeptides in obesity hypertension. *Braz J Med Biol Res*. 2000; 33: 605-18.

-
-
- 192 Correia ML, Morgan DA, Sivitz WI, Mark AL, Haynes WG. Leptin acts in the central nervous system to produce dose-dependent changes in arterial pressure. *Hypertension*. 2001; 37: 936-42.
- 193 Malpas SC. Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease. *Physiol Rev*. 2010; 90: 513-57.
- 194 Simonds SE, Cowley MA. Hypertension in obesity: is leptin the culprit? *Trends Neurosci*. 2013; 36: 121-32.
- 195 Marsh AJ, Fontes MA, Killinger S, Pawlak DB, Polson JW, Dampney RA. Cardiovascular responses evoked by leptin acting on neurons in the ventromedial and dorsomedial hypothalamus. *Hypertension*. 2003; 42: 488-93.
- 196 Tallam LS, da Silva AA, Hall JE. Melanocortin-4 receptor mediates chronic cardiovascular and metabolic actions of leptin. *Hypertension*. 2006; 48: 58-64.
- 197 Aller R, De Luis DA, Izaola O, González Sagrado M, Conde R, Pacheco D, *et al*. Lys656Asn polymorphism of leptin receptor, leptin levels and insulin resistance in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012; 16: 335-41.
- 198 Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ouedrani A, Ben Rejeb N, *et al*. Relationship between leptin G2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms and obesity and metabolic syndrome risk in Tunisian volunteers. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16: 726-33.
- 199 de Luis DA, Gonzalez Sagrado M, Aller R, Izaola O, Conde R. Influence of Lys656Asn polymorphism of leptin receptor gene on insulin resistance in patients with diabetes mellitus type 2. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008; 81: e9-e11.
- 200 de Luis DA, Gonzalez Sagrado M, Aller R, Izaola O, Conde R, Castro MJ. Lys656Asn polymorphism of leptin receptor gene and metabolic syndrome in obese patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011; 15: 463-8.
- 201 Franks PW, Brage S, Luan J, Ekelund U, Rahman M, Farooqi IS, *et al*. Leptin predicts a worsening of the features of the metabolic syndrome independently of obesity. *Obes Res*. 2005; 13: 1476-84.
- 202 Kieffer TJ, Heller RS, Leech CA, Holz GG, Habener JF. Leptin suppression of insulin secretion by the activation of ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 1997; 46: 1087-93.
- 203 Ceddia RB, William WN, Curi R. Comparing effects of leptin and insulin on glucose metabolism in skeletal muscle: evidence for an effect of leptin on glucose uptake and decarboxylation. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999; 23: 75-82.
- 204 Dyck DJ, Heigenhauser GJ, Bruce CR. The role of adipokines as regulators of skeletal muscle fatty acid metabolism and insulin sensitivity. *Acta Physiol (Oxf)*. 2006; 186: 5-16.

- 205 Plum L, Belgardt BF, Brüning JC. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *J Clin Invest.* 2006; 116: 1761-6.
- 206 Niswender KD, Baskin DG, Schwartz MW. Insulin and its evolving partnership with leptin in the hypothalamic control of energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 2004; 15: 362-9.
- 207 Niswender KD, Gallis B, Blevins JE, Corson MA, Schwartz MW, Baskin DG. Immunocytochemical detection of phosphatidylinositol 3-kinase activation by insulin and leptin. *J Histochem Cytochem.* 2003; 51: 275-83.
- 208 Heilbronn LK, Campbell LV. Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. *Curr Pharm Des.* 2008; 14: 1225-30.
- 209 Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006; 17: 4-12.
- 210 de Oliveira R, Cerda A, Genvigir FD, Sampaio MF, Armaganijan D, Bernik MM, *et al.* Leptin receptor gene polymorphisms are associated with adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2013; 57: 677-84.
- 211 Becer E, Mehmetçik G, Bareke H, Serakıncı N. Association of leptin receptor gene Q223R polymorphism on lipid profiles in comparison study between obese and non-obese subjects. *Gene.* 2013; 529: 16-20.
- 212 van der Vleuten GM, Kluijtmans LA, Hijmans A, Blom HJ, Stalenhoef AF, de Graaf J. The Gln223Arg polymorphism in the leptin receptor is associated with familial combined hyperlipidemia. *Int J Obes (Lond).* 2006; 30: 892-8.
- 213 Constantin A, Costache G, Sima AV, Glavce CS, Vladica M, Popov DL. Leptin G-2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian subjects. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 391: 282-6.
- 214 Jackson KG, Delgado-Lista J, Gill R, Lovegrove JA, Williams CM, López-Miranda J, *et al.* The leptin receptor Gln223Arg polymorphism (rs1137101) mediates the postprandial lipaemic response, but only in males. *Atherosclerosis.* 2012; 225: 135-41.
- 215 Crescenti A, Solà R, Valls RM, Anguera A, Arola L. Polymorphisms in *LEP* and *NPY* genes modify the response to soluble fibre *Plantago ovata* husk intake on cardiovascular risk biomarkers. *Genes Nutr.* 2013; 8: 127-36.
- 216 Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, *et al.* Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996; 334: 292-5.

- 217 Iribarren C, Husson G, Go AS, Lo JC, Fair JM, Rubin GD, *et al.* Plasma leptin levels and coronary artery calcification in older adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 729-32.
- 218 Corsonello A, Perticone F, Malara A, De Domenico D, Loddo S, Buemi M, *et al.* Leptin-dependent platelet aggregation in healthy, overweight and obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003; 27: 566-73.
- 219 Wannamethee SG, Tchernova J, Whincup P, Lowe GD, Kelly A, Rumley A, *et al.* Plasma leptin: associations with metabolic, inflammatory and haemostatic risk factors for cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2007; 191: 418-26.
- 220 Maruyama I, Nakata M, Yamaji K. Effect of leptin in platelet and endothelial cells. Obesity and arterial thrombosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 902: 315-9.
- 221 Chehab FF. Obesity and lipodystrophy--where do the circles intersect? *Endocrinology.* 2008; 149: 925-34.
- 222 van de Woestijne AP, Monajemi H, Kalkhoven E, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction and hypertriglyceridemia: mechanisms and management. *Obes Rev.* 2011; 12: 829-40.
- 223 Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, *et al.* Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001; 25: 714-20.
- 224 Wauters M, Mertens I, Rankinen T, Chagnon M, Bouchard C, Van Gaal L. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 3227-32.
- 225 Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, Gagnon J, Périusse L, Chagnon M, *et al.* Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 29-34.
- 226 Magi R, Lindgren CM, Morris AP. Meta-analysis of sex-specific genome-wide association studies. *Genet Epidemiol.* 2010; 34: 846-53.
- 227 Mammès O, Aubert R, Betoulle D, Péan F, Herbeth B, Visvikis S, *et al.* *LEPR* gene polymorphisms: associations with overweight, fat mass and response to diet in women. *Eur J Clin Invest.* 2001; 31: 398-404.
- 228 Friedman-Einat M, Camoin L, Faltin Z, Rosenblum CI, Kaliouta V, Eshdat Y, *et al.* Serum leptin activity in obese and lean patients. *Regul Pept.* 2003; 111: 77-82.
- 229 Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* United States 2005; 101-14.
- 230 Stefan N, Vozarova B, Del Parigi A, Ossowski V, Thompson DB, Hanson RL, *et al.* The Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor in Pima Indians: influence

on energy expenditure, physical activity and lipid metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26: 1629-32.

231 Stratigopoulos G, LeDuc CA, Matsuoka N, Gutman R, Rausch R, Robertson SA, *et al*. Functional consequences of the human leptin receptor (*LEPR*) Q223R transversion. *Obesity (Silver Spring)*. 2009; 17: 126-35.

232 Elliott RM, Johnson IT. Nutrigenomic approaches for obesity research. *Obes Rev*. 2007; 8 Suppl 1: 77-81.