UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Farmácia – Fisiopatologia e Toxicologia

Área de Análises Clínicas

Associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com
obesidade e marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas

Cristina Moreno Fajardo

Dissertação para obtenção do Título de MESTRE

Orientadora: Profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata

São Paulo

2020

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Farmácia – Fisiopatologia e Toxicologia

Área de Análises Clínicas

Associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com
obesidade e marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas

Cristina Moreno Fajardo

Versão Corrigida

Dissertação para obtenção do Título de MESTRE

Orientadora: Profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata

São Paulo

2020

Cristina Moreno Fajardo

Associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com
obesidade e marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do Título de MESTRE

Profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata
Orientadora/Presidente

Prof. Dr. Alvaro Danilo Cerda Maureira

Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Prof. Dr. Joilson de Oliveira Martins

São Paulo, 18 de maio de 2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

F111a Fajardo, Cristina Moreno
Associação de variantes em MC3R, MC4R, IRS1 e
IRS2 com obesidade e marcadores metabólicos,
inflamatórios e adipocinas / Cristina Moreno
Fajardo. - São Paulo, 2020.
104 p. + Cento e quatro

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas -
Programa de Pós-Graduação em Farmácia (Fisiopatologia
e Toxicologia).

Orientador: Hirata, Rosario Dominguez Crespo

1. variantes genéticas. 2. obesidade. 3.
adipocinas. 4. marcadores metabólicos. 5. marcadores
inflamatórios. I. T. II. Hirata, Rosario Dominguez
Crespo, orientador.

Ao Senhor Jesus pela certeza do cuidado.

Aos meus queridos pais, Domingos e Maria Alice, e ao meu esposo Alexandre e nossa filha, Ellen, porque vocês são preciosos para mim.

AGRADECIMENTOS

À querida profa. Dra. Rosario Dominguez Crespo Hirata, minha orientadora. Obrigada pela oportunidade, pela confiança, por todo o apoio que me deu e pelo muito que me ensinou. Professora, você é um exemplo de dedicação para mim!

Ao querido prof. Dr. Mario Hiroyuki Hirata, pelo grande profissional e pessoa que você é. Pela amizade e por todo o carinho e respeito.

A querida profa. Dra. Silvia Agostinho do Instituto de química da USP, porque pela oportunidade que um dia me deu é que hoje aqui estou. Obrigada por sua amizade e carinho.

Aos queridos alunos e amigos do laboratório de Biologia Molecular por sempre me apoiarem e me ajudarem nestes anos de trabalho como técnica deste laboratório e também como aluna. Respeito demais o trabalho de vocês.

A Bruna, Akira, Renata, Victor, Gláucio, Brayan, Carolina, Elizabeth, Aecio e Alice Rodrigues pela força e apoio.

Agradecimento especial ao Alvaro Cerda e Raul pela ajuda e incentivo.

A minha querida família pelo amor e por entenderem minhas ausências.

A minha irmã Miriam pela paciência e as minhas amadas cunhadas Semiramis e Sandra Fajardo, porque vocês são muito importantes para mim e pelo apoio constante.

As amigas queridas, Mariana Ferreira, Fabiana Gengivir, Geiza, Priscila, Fabiana Teixeira e Silene porque vocês são pessoas maravilhosas.

Aos técnicos deste departamento pelo carinho e respeito.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da USP, em nome da sua Diretora, Profa. Dra. Primavera Borelli Garcia.

Aos médicos da Divisão de Clínica Médica do Hospital Universitário (HU) da USP, em especial ao Dr. Egidio Lima Dorea.

Ao Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia pelas amostras fornecidas.
Ao Linc na pessoa da Gisele pela amizade e constante apoio.

As secretarias do departamento de análises clínicas e toxicológicas.

Aos meus amigos da igreja Adventista do Sétimo Dia.

Aos pacientes, que contribuíram de maneira anônima para este estudo.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO

Fajardo, C.M. **Associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com obesidade e marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas.** 2020.104 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Introdução: A obesidade é uma doença metabólica crônica com diversas complicações de alto risco cardiovascular. Variantes em genes das vias da leptina-melanocortina e insulina foram associados com a obesidade e suas complicações. No entanto, a relação de variantes nesses genes com alterações antropométricas e metabólicas foram pouco exploradas na população brasileira. **Objetivo:** Analisar a associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com obesidade e biomarcadores metabólicos e inflamatórios e adipocinas, em indivíduos brasileiros. **Métodos:** Neste estudo do tipo caso controle, foram selecionados 168 indivíduos obesos, 99 com sobrepeso e 89 controles (grupo controle) classificados de acordo com o índice de massa corporal (IMC). Dados clínicos, antropométricos e composição corporal foram obtidos e os perfis metabólico, inflamatório e de adipocinas foram analisados. As variantes *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A), *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C), *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) e *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) foram analisadas por PCR em tempo real. **Resultados:** Os valores de parâmetros antropométricos e taxa de gordura corporal foram maiores nos grupos obeso e sobrepeso que no grupo controle ($p<0,001$). O grupo obeso apresentou maior frequência de hipertensão (46,5%), diabetes tipo 2 (24,7%), dislipidemia (65,3%) e uso de medicamentos (74,1%) e menor prática de atividade física (32,4%) que os demais grupos ($p<0,05$). O grupo obeso também apresentou concentrações maiores de leptina, resistina, fibrinogênio, PAI-1, IL-1 β , IL-6, PCRus e TNF α e concentrações menores de receptor de leptina solúvel que os demais grupos ($p<0,05$). As frequências alélicas das variantes genéticas deste estudo foram similares às da população geral ($p>0,05$). O genótipo AA do *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) foi associado com sobrepeso ($p=0,044$). O alelo A das variantes *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A) foi associado com maior valor de HbA1 e menor concentração de

apolipoproteína AI, respectivamente ($p < 0,05$). O alelo C do *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) foi associado com menor concentração de leptina (em homens) e de resistina ($p < 0,05$). O alelo A do *IRS1* rs2943634 A>C e o genótipo CC do *MC4R* rs17782313 T>C foram associados com maiores concentrações de fibrinogênio e PCRus ($p < 0,05$). Esses resultados foram confirmados pela análise de regressão linear univariada. A análise de regressão logística univariada revelou associação da variante *IRS1* A>C com maior risco de PCRus aumentado (OR=2,187; IC95%=1,237-3,866; $p=0,007$). **Conclusões:** As variantes *MC3R* rs3746619 e rs3827103, *MC4R* rs17782313, *IRS1* rs2943634 e *IRS2* rs1865434 parecem influenciar os perfis metabólico, inflamatório e de adipocinas, podendo ser biomarcadores úteis para avaliar o risco de alterações metabólicas e inflamatórias relacionadas com obesidade.

Palavras chaves: variantes genéticas; obesidade; adipocinas; marcadores metabólicos; marcadores inflamatórios.

ABSTRACT

Fajardo, C.M. **Association of variants in *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* and *IRS2* with obesity and metabolic, inflammatory and adipokines markers.** 2020. 104 p. Dissertation (MSc) - School of Pharmaceutical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2020.

Introduction: Obesity is a chronic metabolic disease with several complications of high cardiovascular risk. Variants in genes of the leptin-melanocortin and insulin pathways have been associated with obesity and its complications. However, the relationship of variants in these genes with anthropometric and metabolic changes has been little explored in the Brazilian population.

Objective: To analyze the association of variants in *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* and *IRS2* with obesity and metabolic and inflammatory biomarkers and adipokines, in Brazilian individuals. **Methods:** In this case-control study, 170 obese, 100 overweight and 89 eutrophic individuals (control group), classified according to the body mass index (BMI), were selected. Clinical, anthropometric and body composition data were obtained and the metabolic, inflammatory and adipokine profiles were analyzed. The variants *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A), *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C), *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) and *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) were analyzed by real-time PCR. **Results:** The values of anthropometric parameters and body fat were higher in the obese and overweight groups than in the eutrophic group ($p < 0.001$). The obese group had a higher frequency of hypertension (46.5%), type 2 diabetes (24.7%), dyslipidemia (65.3%) and medication use (74.1%) and less physical activity (32.4%) than the other groups ($p < 0.05$). The obese group also had higher concentrations of leptin, resistin, fibrinogen, PAI-1, IL-1 β , IL-6, CRP and TNF α and lower concentrations of soluble leptin receptor than the other groups ($p < 0.05$). The allele frequencies of the genetic variants in this study were similar to those of the general population ($p > 0.05$). The genotype AA of the variant *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) was associated with overweight ($p = 0.044$). The A allele of *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) and rs3827103 (c.130G>A) variants was associated with a higher HbA1 value and a lower apolipoprotein AI concentration, respectively ($p < 0.05$). The C allele of *IRS2*

rs1865434 (g.109756261 C>T) was associated with a lower concentration of leptin (in men) and resistin ($p < 0.05$). The A allele of *IRS1* rs2943634 A>C and the CC genotype of *MC4R* rs17782313 T>C were associated with a higher concentrations of fibrinogen and usCRP ($p < 0.05$). These results were confirmed by univariate linear regression analysis. The univariate logistic regression analysis revealed association of the variant *IRS1* A>C with a higher risk of increased usCRP (OR=2.187; 95% CI=1.237-3.866; $p=0.007$).

Conclusions: The variants *MC3R* rs3746619 and rs3827103, *MC4R* rs17782313, *IRS1* rs2943634 and *IRS2* rs1865434 seem to influence the metabolic, inflammatory and adipokine profiles and may be useful biomarkers to assess the risk of obesity-related metabolic and inflammatory disorders.

Keywords: genetic variants; obesity; adipokines; metabolic markers; inflammatory markers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura e componentes celulares do tecido adiposo. Adaptado de (OUCHI et al., 2011).....	20
Figura 2. Papel da leptina na regulação da homeostase energética. Adaptado de: (GEORGEL; N.G.S; BEUTLER, 2008).	23
Figura 3. Interações das vias de sinalização da leptina e da insulina no hipotálamo. Adaptado de (PARK; AHIMA, 2014).	25
Figura 4. Variantes em região codificadora de MC3R e MC4R associadas à obesidade. Em vermelho: variantes missense; em preto: variantes nonsense; em azul: deleções pequenas; em verde: inserções pequenas. Adaptado de (NOVOSELOVA; CHAN; CLARK, 2018).	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Informações sobre variantes genéticas e ensaios PCR em tempo real.	44
Tabela 2. Dados biodemográficos, clínicos e antropométricos dos grupos de estudo.	48
Tabela 3. Perfil metabólico, inflamatório e de adipocinas dos grupos de estudo.	49
Tabela 4. Frequências das variantes em <i>IRS1</i> e <i>IRS2</i> nos grupos de estudo	50
Tabela 5. Frequências das variantes em <i>MC3R</i> e <i>MC4R</i> nos grupos de estudo.	51
Tabela 6. Relação da variante <i>IRS1</i> rs2943634 (g.226203364 A>C) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total	52
Tabela 7. Relação da variante <i>IRS1</i> rs2943634 (g.226203364 A>C) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total	53
Tabela 8. Relação da variante <i>IRS2</i> rs1865434 (g.109756261 C>T) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total	54
Tabela 9. Relação da variante <i>IRS2</i> rs1865434 (g.109756261 C>T) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total	55
Tabela 10. Relação da variante <i>MC3R</i> rs3746619 (c.-95C>A) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total	57
Tabela 11. Relação da variante <i>MC3R</i> rs3746619 (c.-95C>A) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total	58
Tabela 12. Relação da variante <i>MC3R</i> rs3827103 (c.130G>A) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total	59
Tabela 13. Relação da variante <i>MC3R</i> rs3827103 (c.130G>A) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total	60
Tabela 14. Relação da variante <i>MC4R</i> rs17782313 (g.57851097 T>C) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total	61
Tabela 15. Relação da variante <i>MC4R</i> rs17782313 (g.57851097 T>C) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total	62
Tabela 16. Associação das variantes <i>IRS1</i> rs2943634 A>C e <i>IRS2</i> rs2943634 C>T com adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão logística.....	64

Tabela 17. Associação das variantes <i>MC3R</i> rs3746619 C>A e rs3827103 G>A com adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão logística.....	65
Tabela 18. Associação da variante <i>MC4R</i> rs17782313 T>C com adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão logística.....	66
Tabela 19. Influência da variante <i>IRS1</i> rs2943634 A>C sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.....	67
Tabela 20. Influência da variante <i>IRS2</i> rs1865434 C>T sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.....	68
Tabela 21. Influência da variante <i>MC3R</i> rs3746619 (c.-95C>A) sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.....	69
Tabela 22. Influência da variante <i>MC3R</i> rs3827103 (c.130G>A) sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.....	70
Tabela 23. Influência da variante <i>MC4R</i> rs17782313 T>C sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.....	71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGL	Ácidos graxos livres
AgRP	Proteína relacionada ao agouti
Akt	<i>Protein kinase B</i>
Apo AI	Apolipoproteína AI
Apo B	Apolipoproteína B
ASP	<i>Acylation Stimulating Protein</i>
ATP	Trifosfato de adenosina
CA	Circunferência abdominal
CART	Transcrito relacionado a anfetamina e cocaína
CT	Colesterol total
DAC	Doença arterial coronariana
dbSNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism Database</i>
DCV	Doença cardiovascular
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTPs	desoxinucleotídeos
DT2	Diabete tipo 2
DXA	Absorciometria por raios-X de dupla energia
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAM	6-carboxi-fluoresceína.
FoxO1	<i>Forkhead box protein O1</i>
FTO	<i>Fat mass and obesity associated</i>
GLUT4	<i>Transportador de glicose 4</i>
GPCR	Receptor acoplados à proteína G
GWAS	<i>Genome-Wide Association Studies</i>
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA	<i>Homeostasis model assessment</i>
HU/USP	Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
IDPC	Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
IL-1β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
INSR	Receptor de insulina
IRS	<i>Insulin receptor substrate</i>
IRS1	<i>Insulin receptor substrate-1</i>

IRS2	<i>Insulin receptor substrate-2</i>
JAK2	Janus quinase-2
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LEP	Leptina
LEPR	Receptor de leptina
LEPRs	Receptor de leptina solúvel
MC3R	Receptor 3 de melanocortina
MC4R	Receptor 4 de melanocortina
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
NPY	<i>Neuropeptídeo Y</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
ORF	<i>Open Reading frame</i>
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1;
PCI	Pro-proteína convertase
PCRus	Proteína C reativa ultrassensível
PI3K	Fosfatidilinositol 3 quinase
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato
POMC	Pro-opiomelatoncortina
RCQ	Razão circunferência abdominal /circunferência do quadril
RI	Resistência à insulina
RMN	Ressonancia magnética nuclear
SNC	Sistema nervoso central
STAT3	<i>Signal transducer and activator of transcription-3</i>
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TAS	Tecido adiposo subcutâneo
TAV	Tecido adiposo visceral
TG	Triglicérides
TMB	Taxa metabólica basal
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
UNG	<i>Uracil n-glicosilase</i>
VIC	2-cloro 7-fenil1,4-dicloro 6-carboxifluoresceína
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
α-MSH	<i>Alpha melanocyte-stimulating hormone</i>

Sumário

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 BIOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO.....	19
1.2 REGULAÇÃO DA HOMEOSTASE ENERGÉTICA	22
1.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E ETIOLÓGICOS DA OBESIDADE.....	26
1.4 COMORBIDADES ASSOCIADAS COM OBESIDADE	29
1.5 PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DE ADIPOSIDADE	31
1.6 VARIANTES EM <i>MC3R</i> E <i>MC4R</i> E RISCO DE OBESIDADE	33
1.7 VARIANTES EM <i>IRS1</i> E <i>IRS2</i> E RISCO DE OBESIDADE.....	36
2. OBJETIVOS.....	39
2.1 OBJETIVO GERAL	39
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	40
3.1 CASUÍSTICA E PROTOCOLO DE ESTUDO.....	40
3.2 ASPECTOS ÉTICOS	41
3.3 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E COMPOSIÇÃO CORPORAL	41
3.4 AMOSTRAS BIOLÓGICAS E PARÂMETROS LABORATORIAIS	42
3.5 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DO DNA GENÔMICO	43
3.6 ANÁLISE DE VARIANTES GENÉTICAS.....	43
3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	45
4. RESULTADOS.....	46
4.1 CARACTERÍSTICAS DO GRUPO DE ESTUDO	46
4.2 FREQUÊNCIA DE VARIANTES GENÉTICAS	50
4.3 RELAÇÃO DE VARIANTES EM <i>IRS1</i> E <i>IRS2</i> COM OUTRAS VARIÁVEIS NO GRUPO TOTAL.....	51
4.4 RELAÇÃO DE VARIANTES EM <i>MC3R</i> E <i>MC4R</i> COM OUTRAS VARIÁVEIS NO GRUPO TOTAL.....	56
4.5 ANÁLISE DE REGRESSÃO LOGÍSTICA	63
4.6 ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR	66
5. DISCUSSÃO	72
6. CONCLUSÕES	81

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	98

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é resultante do acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo acarretando em prejuízos à saúde física e psicossocial dos indivíduos afetados. Esse acúmulo pode ocorrer pelo excesso de ingestão de calorias provenientes de substratos energéticos como macronutrientes (proteínas, carboidratos, lipídeos) em relação ao gasto energético (metabolismo basal, efeito termogênico dos alimentos e atividade física) na presença de condição sociológica, estilo de vida desfavorável e componente hereditário (FINUCANE et al., 2015; GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017; LAZZER et al., 2010; WHO, 2018; ZAYANI et al., 2018).

O acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo, principalmente abdominal, resulta no aumento de liberação de ácidos graxos, adipocinas e moléculas pró-inflamatórias levando a alterações metabólicas sistêmicas. Essas condições contribuem para o surgimento de diversas complicações como dislipidemia, hipertensão, resistência à insulina, diabetes, doença cardiovascular (DCV), câncer, entre outras (ALGOBLAN; ALALFI; KHAN, 2014; BARBALHO et al., 2015; CASTRO; MACEDO-DE LA CONCHA; PANTOJA-MELÉNDEZ, 2017; FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORREA, 2015; YE; KELLER, 2010).

1.1 Biologia do tecido adiposo

O tecido adiposo (TA) é um órgão endócrino complexo constituído de pré-adipócitos, adipócitos, fibroblastos, macrófagos, células T, matriz extracelular, capilares e vasos sanguíneos que contém células endoteliais e células musculares lisas (**Figura 1**) (OUCHI et al., 2011).

O TA desempenha importante função de reservatório de energia corporal. Os adipócitos podem se hipertrofiar para acumular lipídeos, principalmente triglicerídeos (TG), em decorrência de hiperlipidemia. Pode também ocorrer hiperplasia pelo aumento da taxa de diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros para armazenar excesso de TG (OUCHI et al., 2011). O TA armazena e sintetiza TG em períodos de ingestão alimentar e pode hidrolisar e

liberar TG na forma de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol em períodos de abstinência alimentar, sendo fonte de trifosfato de adenosina (ATP), pela β -oxidação dos AGL (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORREA, 2015).

Figura 1. Estrutura e componentes celulares do tecido adiposo. Adaptado de (OUCHI et al., 2011).

O TA é um tecido dinâmico e metabolicamente ativo e é responsável pela síntese e secreção de várias moléculas bioativas, como adipocinas e citocinas pró e anti-inflamatórias (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORREA, 2015; HUI; FENG, 2018; LUO; LIU, 2016; MARTINS et al., 2014). As adipocinas regulam o metabolismo energético e tem funções neuroendócrina e imunológica (HUI; FENG, 2018; LUO; LIU, 2016). As principais adipocinas são: leptina, adiponectina, resistina, visfatina, fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucina-6 (IL-6), inibidor 1 do ativador do plasminogênio (PAI-1), proteína C reativa (PCR), proteína quimiotática de monócito (MCP-1) e outras (LUO; LIU, 2016; PINTO, 2014; SZABLEWSKI, 2018).

As alterações metabólicas resultantes da hipertrofia do TA induzem o aumento na produção de moléculas pro-inflamatórias e a infiltração e

proliferação de macrófagos, que resultam em processo inflamatório crônico de baixa intensidade (MARTINS et al., 2014; SPERETTA; LEITE; DUARTE, 2014).

Esse estado inflamatório pode levar a resistência à insulina devido à falha na sua via de sinalização, que pode ocorrer pela diminuição da atividade da tirosina-quinase do receptor de insulina mediada pelo $TNF\alpha$, impedindo a continuidade da cascata de sinalização, e da expressão do transportador de glicose 4 (GLUT4) (TZANAVARI; GIANNOGONAS; KARALIS, 2010). A resistência à insulina é a principal complicação da obesidade, podendo evoluir para o diabetes tipo 2 (DT2) e outras comorbidades (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORREA, 2015).

O TA pode ser classificado em branco (TAB) e marrom (TAM) (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013). O TAM tem como função essencial manter a temperatura corporal, produzindo calor principalmente por termogênese (MARLATT; RAVUSSIN, 2017). Os adipócitos do TAM são menores que os do TAB, têm núcleo esférico e numerosas mitocôndrias que liberam calor por oxidação de ácidos graxos. O TAM é altamente vascularizado, o que permite maior disponibilidade de fontes energéticas circulantes para produção de calor (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013).

O TAB está distribuído por todo o corpo, e tem funções mais abrangentes que o TAM. O TAB oferece proteção mecânica para os músculos e isolamento térmico contribuindo para a manutenção da temperatura corporal. Também está envolvido no balanço energético lipídico, entre a síntese (lipogênese) e a degradação de lipídeos (lipólise/oxidação de ácidos graxos). O TAB é o maior tecido endócrino em seres humanos responsável pela secreção de vários hormônios, citocinas e adipocinas, incluindo a leptina que é importante na regulação da homeostase de energia (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013).

O TAB pode estar localizado em região periférica do corpo, denominado TAB superficial (TAS), e na região abdominal, denominado TA visceral (TAV) (COELHO; OLIVEIRA; FERNANDES, 2013).

O TAV tem mais celularidade, irrigação sanguínea e inervação que o TAS. O TAV possui mais células inflamatórias e imunológicas, e adipócitos hipertróficos e menos pré-adipócitos diferenciados. O TAV secreta maior

quantidade de resistina, angiotensina I, PAI-1, PCR e IL-6, enquanto que o TAS tem maior capacidade de secreção de adipocinas como leptina e *acylation stimulating protein* (ASP), enquanto (SIPPEL et al., 2014).

O TAV é mais ativo metabolicamente que o TAS, com maior capacidade de gerar AGL e captar glicose, maior sensibilidade à lipólise e estimulação adrenérgica e maior resistência à insulina. O TAS atua com maior avidez na captação de AGL circulantes (IBRAHIM, 2010).

Dessa forma, indivíduos com obesidade abdominal apresentam maior risco para o desenvolvimento de comorbidades, em especial DCV com maior mortalidade que indivíduos com obesidade subcutânea (IBRAHIM, 2010).

1.2 Regulação da homeostase energética

A homeostase energética corresponde ao balanço entre o consumo e o gasto de energia, regulado pelo eixo leptina-melanocortina. É de extrema importância no controle hormonal e metabólico do corpo, sua desregulação pode resultar em ganho de peso e obesidade (BELFORT-DEAGUIAR; SEO, 2018).

O núcleo arqueado do hipotálamo desempenha importante participação na homeostase energética, através de duas populações neuronais, uma caracterizada por produzir proteína relacionada ao *agouti* (AgRP) e neuropeptídeo Y (NPY), e outra que produz pró-opiomelanocortina (POMC) e transcrito relacionado a anfetamina e cocaína (CART) (KIM et al., 2011).

Os neurônios AgRP/NPY são orexigênicos por estimular a ingestão alimentar e reduzindo o gasto energético; enquanto os neurônios POMC/CART causam o efeito anorexigênico com diminuição de consumo alimentar e estimulação do gasto de energia. Sinais endócrinos periféricos exercem sua função por meio deste sistema regulando a homeostase energética (KIM et al., 2011).

A leptina, hormônio secretado pelo tecido adiposo, é o principal sinal do estado nutricional atuando na regulando do balanço energético, metabolismo da glicose e lipídeos, função imune entre outros sistemas (PARK; AHIMA, 2014). A concentração plasmática de leptina é proporcional ao número de adipócitos e ao conteúdo de gordura corporal (KORNER; WOODS; WOODWORTH, 2009). A

leptina tem ação direta sobre neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo que expressam o receptor de leptina (LEPR), atuando como principal sinalizador periférico dos neurônios POMC/CART e NPY/AgRP (QIU et al., 2014) (**Figura 2**).

A interação da leptina com o LEPR, nos neurônios POMC/CART, induz a expressão de POMC que é clivada dando origem a vários biopeptídeos ativos, incluindo a melanocortina (α -MSH) que é um mediador anorexigênico. A α -MSH por sua vez interage com receptores de melanocortina 3 e 4 (MC3R e MC4R, respectivamente) em outros neurônios hipotalâmicos e sinaliza para a diminuição do consumo alimentar, estimulação do gasto energético e regulação do metabolismo da glicose (**Figura 2**) (KÖNNER; BRÜNING, 2012; VAN DE SANDE-LEE; VELLOSO, 2012). Por outro lado, nos neurônios NPY/AgRP, a interação leptina-LEPR inibe a expressão de NPY e AgRP, que são mediadores orexigênicos e por interação com MC3R e MC4R sinalizam para o aumento do consumo alimentar e redução do gasto de energia (**Figura 2**) (KÖNNER; BRÜNING, 2012).

Figura 2. Papel da leptina na regulação da homeostase energética. Adaptado de: (GEORGEL; N.G.S; BEUTLER, 2008).

A insulina é secretada pelas células β pancreáticas dependentes da concentração de glicose no sangue e de adiposidade (VAN DE SANDE-LEE; VELLOSO, 2012; VARELA; HORVATH, 2012). Como a leptina, a insulina é transportada através da barreira hematoencefálica e interage com receptores expressos predominantemente nos neurônios hipotalâmicos que expressam NPY/AgRP, bem como naqueles que expressam POMC, apresentando forte efeito anorexigênico, regulando a homeostase energética (KÖNNER et al., 2007; SAMODIEN et al., 2019; VARELA; HORVATH, 2012). Além disso, suas ações centrais têm um impacto potente na regulação da homeostase da glicose e metabolismo de lipídeos (VARELA; HORVATH, 2012).

Em estudo fisiológico da sinalização da insulina no cérebro, experimentos com camundongos *knockout* para o gene do receptor de insulina (*INSR*) demonstraram aumento da ingestão de alimentos, em fêmeas, e desenvolvimento de obesidade sensível à dieta, em machos e fêmeas, com aumento da porcentagem de gordura corporal, hiperleptinemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina e hipertrigliceridemia (BRÜNING et al., 2000).

A leptina e a insulina atuam através de receptores específicos que são altamente expressos nos neurônios AgRP e POMC no hipotálamo, além de outras áreas do sistema nervoso central (SNC). Dessa forma, as vias de sinalização da leptina e insulina em POMC e AgRP são muito significativas na regulação da ingestão de alimentos, peso corporal e homeostase da glicose (VARELA; HORVATH, 2012).

A leptina ativa várias vias de sinalização intracelular, incluindo a via Janus quinase 2 (JAK2)/transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3) (KÖNNER; BRÜNING, 2012; ZHOU; RUI, 2013).

A ligação da leptina ao LEPR resulta no recrutamento e ativação da JAK2 que fosforila resíduos de tirosina do receptor, o qual recruta e fosforila STAT3. O STAT3 ativado é translocado ao núcleo e se liga a região promotora dos genes *POMC* e *AGRP*. O STAT3 estimula a expressão de *POMC* e inibe a expressão de *AGRP*, no hipotálamo, induzindo o efeito anorexigênico da leptina (**Figura 3**) (AMITANI et al., 2013). Dessa forma, a via JAK2/STAT3 é essencial para a sinalização da leptina. Defeitos nessa via resultam em resistência à leptina que é um fator de risco para obesidade (ST-PIERRE; TREMBLAY, 2012).

Outra via de sinalização da leptina é a do substrato receptor de insulina (IRS)/fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) que é comum à via de sinalização da

insulina (**Figura 3**) (KÖNNER; BRÜNING, 2012; ZHOU; RUI, 2013). O IRS é recrutado para o LEPR e sofre fosforilação por JAK2. O IRS fosforilado ativa a PI3K que resulta na produção de fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP3) e ativação da via de proteína quinase B (Akt) que fosforila e inibe a ação do fator de transcrição *Forkhead box protein O1* (FoxO1) no núcleo. O FoxO1 inibe a expressão de *POMC* e estimula a expressão de *AGRP*. A inativação do FoxO1 pela Akt resulta na sua exportação do núcleo para o citoplasma e permite que STAT3 se ligue aos promotores de *POMC* e *AGRP*. Dessa forma via IRS/PI3K é um ponto de convergência das vias de sinalização leptina e insulina e tem relevância na modulação da homeostase energética e homeostase da glicose (PARK; AHIMA, 2014; VARELA; HORVATH, 2012).

Figura 3. Interações das vias de sinalização da leptina e da insulina no hipotálamo. Adaptado de (PARK; AHIMA, 2014).

O receptor de insulina é uma glicoproteína com duas subunidades, extracelular (α) e transmembranar (β), esta última com atividade da tirosina quinase. A ligação da insulina à subunidade extracelular do receptor ativa a tirosina quinase da subunidade transmembranar que se autofosforila em três resíduos de tirosina. O receptor ativado recruta e fosforila substratos celulares, incluindo as proteínas IRS1 e IRS2, para iniciar a transdução de sinal pela via IRS/PI3K e regular a expressão de genes envolvidos na homeostase energética (GUO, 2014; KADOWAKI et al., 2012).

As proteínas IRS são uma família de proteínas adaptadoras citoplasmáticas que transmitem sinais do receptor de insulina e estão envolvidas na ligação e ativação de outras moléculas de transdução de sinal (SHAW, 2011).

O IRS1, primeiro membro da família a ser identificado, é o principal substrato do receptor de insulina (SUN et al., 1991; WHITE; MARON; KAHN, 1985), enquanto IRS2 foi descoberto como substrato alternativo (ARAKI et al., 1994; SUN et al., 1995). Os IRS1 e IRS2 são expressos simultaneamente e são os principais mediadores da regulação do metabolismo da glicose na maioria dos tipos celulares, atuando com funções não redundantes (SHAW, 2011).

O papel de IRS na via de sinalização de leptina foi demonstrando em experimentos de *knockout* do IRS2 em camundongos que resultou em obesidade, diabetes associado à resistência à insulina e resistência à leptina (KUBOTA et al., 2004; LIN et al., 2004; SADAGURSKI et al., 2012).

1.3 Aspectos epidemiológicos e etiológicos da obesidade

A obesidade é um problema de saúde pública em ascensão, pois afeta pessoas de todas as faixas etárias, em países desenvolvidos e em desenvolvimento. A obesidade tem impactos sociais e econômicos devido à alta morbidade e mortalidade decorrentes de complicações metabólicas e outras doenças associadas (ALGOBLAN; ALALFI; KHAN, 2014; PÂMELLA et al., 2011; WHO, 2018).

Estima-se que em 2025 mais de 700 milhões de indivíduos sejam obesos e 2,3 bilhões estejam com sobrepeso no mundo, incluindo 75 milhões de crianças (WHO, 2018). No Brasil, levantamentos da Vigitel 2018 indicam

prevalência de obesidade em 19,8% e de sobrepeso de 55,7% na população (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

A obesidade é uma doença metabólica complexa derivada de múltiplos fatores podendo sofrer influência principalmente de fatores ambientais, estilo de vida desfavorável e interação com fatores genéticos, o que torna sua caracterização etiológica uma tarefa difícil (THAKER, 2017); (GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017); (GHOSH; BOUCHARD, 2017). O conhecimento sobre os fatores que levam ao desenvolvimento da obesidade é de suma importância para a prevenção e tratamento da doença (FRANCISQUETI; NASCIMENTO; CORREA, 2015).

Desde meados da década de 80 a prevalência de obesidade tem aumentado em números alarmantes no mundo (FINUCANE et al., 2015; WHO, 2018). Com o desenvolvimento econômico e a urbanização em países industrializados ocorreram mudanças ambientais e sociais consideráveis, as quais afetaram o padrão de vida dos indivíduos com exposição a um ambiente obesogênico e sedentário (ADELA HRUBY, PHD; FRANK B. HU, MD, PHD, 2015; ENES; SLATER, 2010).

A maior oferta de alimentos processados a custos e aquisição mais acessíveis resultou no aumento na ingestão de alimentos ricos em gordura, açúcar e sal, de grande palatabilidade, baixo poder sacietógeno, de baixo consumo de energia para absorção e digestão e pobres em nutrientes (WHO, 2018). Associado a isso ocorreu diminuição no gasto energético, resultado da inatividade física provinda da natureza sedentária das formas de trabalho, transporte e lazer (WHO, 2018), além do estresse do trabalho moderno e poucas horas de sono. Assim, ocorreu um desequilíbrio entre o consumo alimentar e o gasto energético que resulta na desregulação do sistema homeostático, potencializando o ganho de massa gorda corporal e, neste contexto, consequente obesidade (GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017).

Outro fator relevante no processo de ganho de massa gorda corporal está relacionado às mudanças sócio-comportamentais. Com a urbanização, houve um aumento na ingestão alimentar devido às mudanças no comportamento social dos indivíduos. Refeições que antes eram feitas apenas em casa, passaram a serem realizadas em redes de *fast food* e as porções alimentares

aumentaram consideravelmente. Dessa maneira, o estilo de vida novo demandou a realização de refeições rápidas, com menos gasto de tempo e energia acarretando desregulação nos mecanismos de regulação da homeostase energética e controle do consumo alimentar (ADELA HRUBY, PHD; FRANK B. HU, MD, PHD, 2015; ENES; SLATER, 2010; POPKIN, 2006; VAN DER KLAUW; FAROOQI, 2015).

Os fatores genéticos têm sido considerados como responsáveis por até 80% da variabilidade na massa gorda corporal dos indivíduos e são fatores de risco importantes para desenvolvimento da obesidade, sobretudo quando associados a fatores ambientais. (SILVENTOINEN; KAPRIO, 2009).

A obesidade de origem monogênica, também descrita como obesidade rara e grave de início precoce é causada por mutações funcionais em um único gene, geralmente envolvendo a homeostase energética, como nos genes da leptina (*LEP*), receptor de leptina (*LEPR*), pro-opiomelanocortina (*POMC*), receptores 3 e 4 de melanocortina (*MC3R*, *MC4R*), pro-proteína convertase (*PC*), neuropeptídeo Y (*NPY*) e *fat mass and obesity associated* (*FTO*) resultando em fenótipo de obesidade hiperfágica de início precoce, em diferentes populações (HUVENNE et al., 2016; NIAZI et al., 2019; SINGH; KUMAR; MAHALINGAM, 2017).

A obesidade também pode ter susceptibilidade poligênica que resulta do efeito cumulativo de muitas variantes comuns no genoma (KHERA et al., 2019). A obesidade poligênica é mais comum porém bem mais complexa que a monogênica (HINNEY; VOGEL; HEBEBRAND, 2010). Variantes comuns em genes envolvidos na via de sinalização da leptina e da regulação do balanço energético, como *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *MC3R*, *MC4R* e outros, foram associadas com obesidade, em diversas populações (SINGH; KUMAR; MAHALINGAM, 2017).

Em estudo de associação de 37 variantes em genes candidatos com o índice de massa corporal (IMC), em uma amostra de 75.230 adultos de ascendência europeia, foi demonstrada a importância das interações gene-gene e ambiente-gene na distribuição do IMC (ABADI et al., 2017).

Em estudo *in silico* de predição de evolução de peso e obesidade utilizando dados de estudo de associação de genoma total (GWAS) com mais

de 2,1 milhões de variantes potencialmente relacionadas com obesidade, foi observado risco aumentado em 25 vezes para obesidade grave nos escores de decis poligênicos (KHERA et al., 2019).

Em trabalho do nosso grupo de pesquisa, na população brasileira, com variantes *LEP* 3'HVR e G-2548A, foi demonstrado que *LEP* 3'HVR é um importante preditor de características relacionadas à obesidade, bem como de aumento de leptina plasmática (HINUY et al., 2006, 2010). Em outro trabalho sobre variantes em regiões que flanqueiam genes da via leptina-melanocortina, encontramos associação destas variantes com aumento do IMC e risco de obesidade numa amostra da população brasileira (HINUY et al., 2012). Também relatamos que variantes no *LEPR* estão associadas com obesidade, hiperleptinemia e perfil lipídico aterogênico (OLIVEIRA et al., 2013). Recentemente, encontramos associação de variantes em genes do eixo leptina melanocortina com alterações cardiometabólicas relacionadas à obesidade na população chilena (MANRIQUEZ et al., 2018).

Variantes em genes envolvidos na via de sinalização da insulina e regulação da homeostase da glicose, como os *IRS1* e *IRS2*, foram também relacionadas com obesidade e resistência à insulina, em outras populações (BOUCHER; KLEINRIDDER; KAHN, 2014; GUO; GUO, 2017).

1.4 Comorbidades associadas com obesidade

As principais comorbidades associadas com a obesidade incluem a resistência à insulina e DT2, dislipidemia, hipertensão arterial. A obesidade também está associada com alto risco de câncer (MITTENDORFER, 2011; WHO, 2018).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a incidência de DT2 tem aumentando expressivamente no mundo, acompanhando a incidência da obesidade (WHO, 2018). O DT2 é a doença metabólica crônica mais comum na maioria dos países e sua relevância se deve as complicações micro e macrovasculares decorrentes da exposição a altas concentrações de glicose circulante (SBD, 2018).

A hipertrofia do TAB resulta no aumento da liberação de AGL que se acumulam, na forma de TG, no fígado, pâncreas, coração e em outros órgãos. A desregulação do metabolismo lipídico, principalmente dos AGL, prejudica a ação da insulina que afeta a homeostase da glicose. Esse processo também causa aumento no estresse oxidativo, disfunção endotelial da parede vascular e hipertensão. Essas alterações metabólicas e teciduais acarretam em complicações como: resistência à insulina, DT2, dislipidemia, hipertensão, DCV e câncer (ALGOBLAN; ALALFI; KHAN, 2014; HUSSAIN et al., 2010; LOPES et al., 2016; MONTAZERIFAR et al., 2016; PALEY; JOHNSON, 2018).

Na obesidade, o aumento na liberação de AGL resulta em resistência à insulina (HUSSAIN et al., 2010). A insulina tem papel importante como hormônio antilipolítico aumentando a captação de AGL para fornecimento de energia em células musculares ou para serem convertidos em TG pelo fígado (HUSSAIN et al., 2010).

Na hipertrofia do TAB, a liberação excessiva de AGL, na circulação sanguínea, reduz o efeito da insulina sobre o metabolismo lipídico, nos tecidos periféricos, que é um dos mecanismos de resistência à insulina. (CASTRO et al., 2014). Os efeitos deletérios do excesso de AGL na circulação resultam ainda em aumento da produção de glicose pelo fígado e diminuição da captação de glicose pelos tecidos periféricos ocasionando hiperglicemia (CASTRO et al., 2014). No pâncreas, o excesso de AGL resulta em disfunção das células β que compromete a secreção da insulina. Assim, a liberação em excesso de AGL pelo TAB, que ocorre na obesidade, resulta na resistência à insulina, intolerância à glicose e disfunção de células β pancreáticas que pode evoluir para o DT2 (HUSSAIN et al., 2010).

A resistência à insulina nos tecidos periféricos leva ao aumento do fluxo de AGL para o fígado, onde são acumulados como triglicerídeos. Isso resulta no aumento da síntese e secreção de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), rica em TG. Também há redução da lipólise intravascular e resistência do tecido adiposo aos efeitos antilipolíticos da insulina. Estas alterações na homeostase lipídica resultam em hipertrigliceridemia e redução de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL) que são comuns na obesidade (KLOP; ELTE; CABEZAS, 2013)

A obesidade também tem sido associada com hipertensão arterial sistêmica porque a prevalência de hipertensão aumenta consideravelmente com o aumento da gordura corporal (DE SIMONE et al., 2016). Mecanismos têm sido propostos para explicar a associação entre obesidade e hipertensão arterial, um deles é o aumento da atividade do sistema nervoso simpático devido a produção de citocinas pró-inflamatórias e disfunção endotelial (CASTRO et al., 2014; DE SIMONE et al., 2016).

A probabilidade de o indivíduo desenvolver hipertensão arterial é diretamente proporcional ao aumento do IMC, passando de 2,5 vezes na obesidade grau I e II para até 4,5 vezes na obesidade mórbida. A hipertensão é um fator de risco para DCV, principal fator para morte e invalidez com 7,5 milhões de óbitos por ano no mundo (SAMPSON et al., 2014).

Mecanismos têm sido propostos para explicar a associação entre obesidade e hipertensão arterial, um deles é o aumento da atividade do sistema nervoso simpático devido a produção de citocinas pró-inflamatórias e disfunção endotelial (CASTRO et al., 2014; DE SIMONE et al., 2016).

A relação entre obesidade e o aumento da incidência de morte por câncer foi bem estabelecida nas últimas duas décadas, estima-se que a obesidade contribua para até 20% das mortes por câncer (KOLB; SUTTERWALA; ZHANG, 2016; STONE; MCPHERSON; GAIL DARLINGTON, 2018).

O processo inflamatório que ocorre na obesidade é um fator de risco para vários tipos de câncer (KOLB; SUTTERWALA; ZHANG, 2016; PAPA; PIRFO; MURAD, 2013; SECRETAN et al., 2016). Isso porque o processo inflamatório crônico pode danificar o DNA e causar mutações em oncogenes e genes supressores de tumores que estão envolvidos no controle do ciclo celular, (INSTITUTE, 2017; KOLB; SUTTERWALA; ZHANG, 2016).

1.5 Parâmetros para avaliação de adiposidade

Um dos métodos mais utilizados para avaliação da adiposidade é o IMC que é calculado pela razão entre a massa corporal (kg) e a altura (m²) do indivíduo (NUTTALL, 2015); (PREVENTION, 2017).

O IMC é de fácil execução e amplamente utilizado para avaliar a adiposidade. No entanto, a principal limitação do IMC é que não avalia a taxa da gordura corporal e a sua distribuição no organismo, não possibilitando diferenciar entre massa magra e massa gorda. Assim, em alguns casos a classificação de obesidade pelo IMC pode não refletir excesso de gordura corporal e vice-e-versa (NUTTALL, 2015); (PREVENTION, 2017); (DE-MATEO-SILLERAS et al., 2019).

No cálculo do IMC, também não são considerados fatores importantes na classificação da obesidade, tais como idade, gênero, etnia e massa óssea. Em um trabalho com crianças e adolescentes, foi demonstrado que o IMC foi um indicador específico mas não sensível para detectar adiposidade aumentada, sendo que aproximadamente 25% das crianças classificadas como não obesas pelo IMC podem ter obesidade (JAVED et al., 2015). Dessa forma, a prevalência da obesidade estaria sendo subestimada.

Em estudo com crianças sobrepeso e obesas da população espanhola foi demonstrado que o IMC, superestimou a população obesa, já que o índice revelou que a maioria das crianças estudadas eram obesas, apesar de 12% delas apresentarem percentual normal de gordura (DE-MATEO-SILLERAS et al., 2019).

A adiposidade pode ser avaliada, em conjunto com o IMC, pela circunferência abdominal e pela razão da circunferência abdominal/quadril (RCQ), índices que consideram a gordura abdominal, parâmetro que tem sido fortemente relacionado com risco de DCV (DE-MATEO-SILLERAS et al., 2019).

A gordura corporal total também pode ser avaliada por medida das dobras cutâneas (MARTINS et al., 2011) e por bioimpedância ou impedância bioelétrica. A bioimpedância é muito utilizada por ser um método fácil de realizar, rápido, não invasivo, sem riscos ao indivíduo e com boa relação custo-benefício (DE-MATEO-SILLERAS et al., 2019). Este método quantifica a condução da corrente elétrica (impedância) gerada por eletrólitos, principalmente sódio e potássio, e água dos fluídos corporais, (EICKEMBERG et al., 2011). Tecidos magros por conter grandes quantidades de água e eletrólitos são altamente condutores de corrente. No entanto, alguns tecidos oferecem alta resistência elétrica como no caso da gordura, ossos e pele (EICKEMBERG et al., 2011); (KYLE et al., 2004). No cálculo da bioimpedância são considerados medidas antropométricas como

peso e altura, e informações como idade e gênero (KHALIL; MOHKAR; IBRAHIM, 2014).

Outros métodos mais eficientes para avaliar a adiposidade são: absorciometria por raios X de dupla energia (DXA), ressonância magnética nuclear (RMN), tomografia computadorizada e ultrassonografia. Entretanto, estes são métodos muito caros e necessitam de profissional especializado para operá-los (DE-MATEO-SILLERAS et al., 2019).

1.6 Variantes em MC3R e MC4R e risco de obesidade

Os receptores MC3R e MC4R são membros da família de receptores acoplados à proteína G (GPCR) e são expressos em vários tipos celulares, principalmente em neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo, e desempenham papel importante na regulação da homeostase energética e do ganho de peso corporal por ações centrais e periféricas (ADAMSKA-PATRUNO et al., 2019; DEMIDOWICH; JUN; YANOVSKI, 2017; GIRARDET; BUTLER, 2014).

Foi demonstrado que camundongos *knockout* duplo para MC3R e MC4R (*Mc3R*^{-/-} e *Mc4R*^{-/-}) apresentaram maior peso que animais *knockout* para MC4R isoladamente (CHEN et al., 2000). Esse estudo também mostrou que camundongos *knockout* para *Mc3R* apresentam maior massa gorda e eficiência alimentar, bem como hiperleptinemia e hiperinsulinemia leve quando comparados com os animais não-*Knockout* (CHEN et al., 2000).

Inicialmente o MC3R humano foi descrito como possuindo um único éxon que codifica para uma proteína de 361 aminoácidos em 20q13.2 (COOKE et al., 2008). No entanto, estudos posteriores sugeriram que o início da tradução desse gene é localizado no segundo ATG e não no primeiro como se preconizava inicialmente, resultando numa proteína curta com apenas 37 aminoácidos. Park e colaboradores identificaram um novo éxon a montante que estende o comprimento da 5'UTR sem alterar o quadro de leitura aberta (*Open Reading frame* - ORF) (PARK; SHARMA; CUTTING, 2014). Portanto, O MC3R possui dois éxons, sendo o primeiro não codificador, e requer um 5'UTR para início da tradução a partir do segundo ATG incorporado (PARK; SHARMA; CUTTING,

2014). Já foram identificadas mais de 27 variantes missense no *MC3R* (**Figura 4**) (YANG; TAO, 2016).

Vários estudos investigaram a associação da variante *missense MC3R* rs3827103 (c.130G>A, Val44Ile; antiga V81I) e da variante 5'UTR *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A, antiga Thr6Lys) (DBSNP, 2019) com obesidade, em humanos adultos, mas os resultados são controversos (SCHALIN-JÄNTTI et al., 2003; YANG; TAO, 2016). Possivelmente porque os efeitos dessas variantes são observados em períodos mais precoces da vida e, sobretudo quando ocorrem em homozigose (DEMIDOWICH; JUN; YANOVSKI, 2017).

Schalin e colaboradores analisaram 252 pacientes obesos mórbidos e 312 controles saudáveis e não observaram associação de três variantes comuns do *MC3R*, incluindo rs3746619 (c.-95C>A, antiga Thr6Lys), rs3827103 (c.130G>A, Val44Ile; antiga V81I). Foi observado completo desequilíbrio de ligação entre essas duas variantes e o genótipo combinado -95CC/130GG foi associado com menor concentração de leptina e razão insulina/glicose, e tendência a menor peso aos 20 anos de idade (SCHALIN-JÄNTTI et al., 2003).

A variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A, antiga T6K) foi associada com a regulação da massa corporal de obesos adultos caucasianos belgas (ZEGERS et al., 2010). Por outro lado, um estudo realizado na população europeia reportou que a variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) não tem efeito significativo na perda de massa corporal, em obesos submetidos a uma dieta de restrição calórica por 10 semanas (SANTOS et al., 2011).

Em estudo do nosso grupo, as variantes *MC3R* rs3827103 (c.130 G>A, Val44Ile) e rs3746619 c.-95C>A não foram associadas diretamente com obesidade, síndrome metabólica e outras alterações metabólicas, em indivíduos chilenos adultos (MANRIQUEZ et al., 2018).

Uma meta-análise que incluiu cinco estudos sobre obesidade em crianças de diversas nacionalidades (chinesas, indianas, polonesas, africanas e norte americanas) concluiu que o genótipo *MC3R* c.-95AA (antigo T6K) foi associado com risco aumentado para sobrepeso e/ou obesidade (KOYA et al., 2018).

Trabalhos de revisão relataram associação das variantes rs3746619 (c.-95C>A, antiga Thr6Lys) e rs3827103 (c.130G>A, Val44Ile; antiga V81I) (DBSNP, 2019) com hiperleptinemia e obesidade (DEMIDOWICH; JUN; YANOVSKI,

2017; MANRIQUEZ et al., 2018; YANG; TAO, 2016). Novoselova e colaboradores relataram que a associação com obesidade é mais forte quando as duas variantes *MC3R* rs3827103 (c.130 G>A ,Val44Ile) e rs3746619 (c.-95C>A) estão em desequilíbrio de ligação (NOVOSELOVA; CHAN; CLARK, 2018).

Figura 4. Variantes em região codificadora de MC3R e MC4R associadas à obesidade. Em vermelho: variantes missense; em preto: variantes nonsense; em azul: deleções pequenas; em verde: inserções pequenas. Adaptado de (NOVOSELOVA; CHAN; CLARK, 2018).

Variantes funcionais no *MC4R* são a causa mais comum de obesidade monogênica, sendo a maioria do tipo *missense* (**Figura 4**) (LOOS, 2012). Variantes de perda de função total no *MC4R* resultam em quadro de obesidade grave, enquanto que as de ganho de função, pouco frequentes, estão associadas à proteção contra o distúrbio nutricional (FAROOQI et al., 2003; NOVOSELOVA; CHAN; CLARK, 2018).

Variantes comuns no *MC4R* têm sido associadas à obesidade poligênica (EHTESHAM; QASIM; MEYRE, 2019). Em crianças americanas, europeias e chilenas, a variante do *MC4R* rs17782313 (g.57851097T>C) foi relacionada com comportamento alimentar alterado, principalmente com maior ingestão calórica

(OBREGÓN et al., 2010). Em outros estudos de obesidade infantil, foi observado que a variante *MC4R* rs17782313 está associada ao fenótipo de obesidade em crianças portuguesas (ALMEIDA et al., 2018) e em crianças chinesas (FU et al., 2017).

Em indivíduos adultos de ascendência europeia, foi encontrada associação da variante *MC4R* rs17782313 (g.57851097T>C) com o comportamento alimentar relacionado ao estado emocional, o que pode facilitar o desenvolvimento da obesidade (YILMAZ et al., 2015).

Em estudo do nosso grupo, o alelo C da variante *MC4R* rs17782313 foi associado com menor valor de IMC, maior concentração de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL) e risco diminuído de síndrome metabólica, em adultos chilenos (MANRIQUEZ et al., 2018).

No estudo de Adamska-Pratuno e colaboradores, foram analisadas as variantes *MC4R* rs17782313 (g.57851097T>C), rs633265 (g.57831468G>T), rs1350341 (g.57842533G>A) e rs12970134 (g.57884750G>A), mas somente foi encontrada associação da rs1350341 (g.57842533G>A) com o conteúdo e a distribuição de gordura corporal, bem como o aumento relativo na utilização pós-prandial de carboidratos (ADAMSKA-PATRINO et al., 2019).

1.7 Variantes em *IRS1* e *IRS2* e risco de obesidade

As proteínas *IRS1* e *IRS2* tem importante papel na via de sinalização da insulina e da leptina (PARK; AHIMA, 2014). São expressas no cérebro em outros tecidos responsivos a insulina (GUO; GUO, 2017; SHAW, 2011).

Em experimentos com camundongos *knockout* sistêmico para *IRS1* foi mostrado retardo no crescimento dos animais, hiperinsulinemia, sensibilidade à insulina reduzida e hiperplasia das células β . Em camundongos *knockout* tecido específico (cérebro) para *IRS2* foi observado obesidade, hiperinsulinemia, sensibilidade reduzida à insulina e tolerância à glicose e comprometida (KUBOTA et al., 2004; KUBOTA; KUBOTA; KADOWAKI, 2017).

Variantes no *IRS1* foram estudadas em várias populações e foi sugerida associação das mesmas com resistência à insulina, DT2 ou adiposidade. Em estudo com mulheres hispânicas, a variantes *missense IRS1* rs1801278

(Gly972Arg) foi associada com menor RCQ, sugerindo influência desta variante na composição corporal (SWEENEY et al., 2005). Em estudo com mulheres com síndrome do ovário policístico, foi verificada associação da variante *IRS1* rs1801278 (Gly972Arg) com hiperinsulinemia e resistência à insulina (VILLUENDAS et al., 2005).

Em um estudo de meta-análise foi observado que a variante *IRS1* rs1801278 (Gly972Arg) está associada com maior risco de DT2, em asiáticos, (LI et al., 2016). Em uma revisão sistemática, na população do México, foi demonstrada associação de 26 variantes, incluindo a variante *IRS1* rs1801278 (Gly972Arg), com o risco aumentado de DT2 (GARCÍA-CHAPA et al., 2017).

Em um GWAS, a variante rs2943641 (adjacente ao *IRS1*) foi fortemente associada com hiperinsulinemia, resistência à insulina, DT2, e risco elevado de doença arterial coronariana (DAC), em franceses, dinamarqueses e finlandeses. Essa variante também foi associada com expressão diminuída da proteína *IRS1* e baixa indução de insulina na atividade de PI3K associada a *IRS1* em biopsia de músculo esquelético humano (RUNG et al., 2009). A variante *IRS1* rs2943641 também foi associada com DT2, em caucasianos (LI et al., 2016).

Em uma meta-análise de 15 GWAS sobre adiposidade com 36.626 indivíduos de descendência européia, foram identificados 32 *loci* que influenciam o IMC. Foi observada associação da variante rs2943650 (próxima ao *IRS1*) com expressão diminuída do *IRS1* e com perfil metabólico alterado, incluindo maior razão de gordura visceral/subcutânea, resistência à insulina, dislipidemia, e maior risco de DT2 e de DAC (KILPELÄINEN et al., 2011).

A variante rs2943634, próxima ao *IRS1*, foi relacionada com susceptibilidade à síndrome metabólica, em holandeses (POVEL et al., 2012).

Variantes intergênicas rs2943650, rs2943634 e rs2943641 foram associadas com percentagem de gordura corporal, em mulheres hispânicas e latinas dos Estados Unidos (QI et al., 2016). Nesse estudo, a variante rs2943650 foi associada com adiposidade e perfil metabólico favorável.

A associação de variantes no *IRS2* com diabetes e obesidade foi menos estudada. Em um estudo de variantes que influenciam a homeostase da glicose e IMC em mulheres com síndrome do ovário policístico, foi observada associação da variante *IRS2* rs1805097 (Gly1057Asp) com tolerância à glicose diminuída

(VILLUENDAS et al., 2005). Por outro lado, em estudo com mulheres hispânicas, a *IRS2* rs1805097 (Gly1057Asp) não foi associada com parâmetros antropométricos e obesidade central (SWEENEY et al., 2005).

A variante *IRS2* rs1805097 (Gly1057Asp) foi associada com DT2 sendo mediada obesidade em chineses (KONG et al., 2005) e em asiáticos indianos (BODHINI et al., 2007). Em mulheres francesas, a variante *IRS2* rs1805097 (Gly1057Asp) foi associada com obesidade e síndrome metabólica (ATTAOUA et al., 2009).

Um estudo de meta-análise investigou a associação da variante *missense IRS2* rs1805097 (Gly1057Asp) com DT2. O alelo 1057Asp foi associado com menor risco de DT2, e a obesidade é um fator modificador desta associação (JIANG et al., 2015).

Um trabalho de revisão examinou variantes em vários genes e identificou associação da variante *IRS2* rs1805092 com sobrepeso e obesidade em pacientes com DT2 não controlada (KASIM et al., 2016).

Como comentado anteriormente, variantes em genes das vias da leptina e insulina têm sido associadas com hiperleptinemia e risco aumentado de obesidade, em de diferentes populações.

Estudos sobre variantes funcionais, regulatórias e intergênicas em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* têm mostrado associações significativas com adiposidade e DT2, em adultos e crianças. Entretanto há poucos estudos na população brasileira que é bastante miscigenada. Dessa forma os resultados de estudos de associação genética realizados em populações mais homogêneas podem não refletir os dados da nossa população.

O estudo de variantes nos genes *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* é relevante para ampliar o conhecimento sobre as bases moleculares da obesidade, na nossa população, além de investigar a associação destes marcadores genéticos com alterações metabólicas e inflamatórias relacionadas com adiposidade.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com obesidade e marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas, em indivíduos brasileiros.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar as frequências de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2*, em uma amostra da população brasileira;
- Avaliar a associação de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* com perfil antropométrico e obesidade;
- Avaliar a influência de variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* sobre biomarcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Casuística e protocolo de estudo

Neste estudo do tipo caso-controle, foram incluídos 356 indivíduos, 255 mulheres e 101 homens, com idade entre 20 a 70 anos, sem vínculo genético, atendidos no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU/USP) e no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC), São Paulo. Não foram incluídos no estudo indivíduos com doenças renais, hepáticas, tireoideanas ou suprarrenais, hipogonadismo nos homens e hiperandrogenismo em mulheres, outros tipos de obesidade secundária e mulheres grávidas. Dados obtidos por anamnese e prontuários médicos.

Os indivíduos foram classificados como eutróficos (IMC: 18,5 a 24,9 Kg/m², n=89), considerado grupo controle, e como obesos (IMC: $\geq$ 30 Kg/m², n=170) e sobrepeso (IMC: 25,0-29,9 Kg/m², n=100), de acordo com critérios da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO, 2016).

Os dados biodemográficos (idade, sexo e etnia) e clínicos (diabete, hipertensão, dislipidemia), hábitos de vida (consumo de tabaco e álcool, prática de atividade física), histórico familiar de DCV e medicações em uso, foram obtidos por anamnese, individualmente em sala reservada e consulta a prontuários médicos.

Foram considerados diabéticos os indivíduos com glicemia de jejum superior a $\geq$ 126mg/dL ou em uso de medicamento hipoglicemiante de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2018). Foram classificados como hipertensos indivíduos com pressão arterial diastólica/sistólica (PAD/PAS) igual ou superior a 90/140 mmHg ou em uso de anti-hipertensivo de acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2019). Os indivíduos em uso de hipolipemiante ou com alterações no perfil lipídico de acordo com as diretrizes brasileiras de dislipidemias e prevenção da aterosclerose (FALUDI et al., 2017) foram considerados dislipidêmicos.

Os dados de tabagismo e consumo de álcool foram obtidos por respostas afirmativas e negativas dos indivíduos. Foram considerados fumantes indivíduos

que fumam qualquer quantidade de tabaco e para consome de álcool àqueles que tomam até 7 doses por semana.

3.2 Aspectos Éticos

Todos os indivíduos que concordaram participar da pesquisa foram informados sobre os procedimentos do estudo, bem como assinaram um termo livre e esclarecido antes da sua inclusão no protocolo. O estudo está relacionado com outros projetos aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (Protocolo nº 812/08, Anexo 1), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (Protocolo nº 471, Anexo 2; e Protocolo nº 585, Anexo 3) e do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (Protocolo nº 4134, Anexo 4).

3.3 Medidas antropométricas e composição corporal

Para avaliação do IMC, as medidas de massa corporal e altura foram feitas com o mínimo de roupas possível e descalço, em balança mecânica para pesagem de humanos (Filizola S.A., São Paulo, Brasil). Para o cálculo do IMC foi utilizada a fórmula: $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Altura (m)}^2$ (ABESO, 2016).

As medidas de circunferência abdominal (CA) e de quadril (CQ) foram obtidas utilizando-se uma fita métrica flexível comum, com estes parâmetros foi calculada a RCQ. A CA foi medida no ponto médio entre o reborbo costal inferior e a crista ilíaca e a CQ foi medida pelo maior diâmetro passando os trocânteres maiores (ABESO, 2016). De acordo com a sociedade brasileira de obesidade deve-se considerar risco aumentado de complicações metabólicas medidas de CA superiores a 94 cm para homens e superiores a 80 cm para mulheres. Já para RCQ valores de corte de 0,90 para homens e 0,85 para mulheres.

A composição corporal foi analisada por bioimpedância elétrica utilizando-se o equipamento de bioimpedância modelo 310e (RJL Systems, In, EUA) com o indivíduo na posição supina.

A pressão arterial foi medida depois de aproximadamente 30 minutos de repouso usando um aparelho de pressão digital modelo MA100 (Grey

Techonology Ltd, Warndon, Worcestershire, UK). PAD/PAS igual ou superior a 90/140 mmHg foi considerada hipertensão (SBC, 2019).

3.4 Amostras biológicas e parâmetros laboratoriais

Amostras de sangue foram coletadas, após jejum de 10 a 12 horas, com e sem anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para análise dos parâmetros laboratoriais e extração de DNA.

As concentrações de colesterol total, colesterol da HDL, triglicérides e a glicose foram determinadas por ensaios enzimático-colorimétricos padronizados. Os valores de colesterol da VLDL e da lipoproteína de baixa densidade (LDL) foram calculados pela formula de Friedewald para valores de triglicérides inferiores a 400 mg/dL (FALUDI et al., 2017). As concentrações de fibrinogênio foram determinadas por métodos colorimétricos. A hemoglobina glicada (HbA1c) foi medida por cromatografia de afinidade.

Os parâmetros insulina, apolipoproteína (apo) B, apo AI, receptor de leptina solúvel (LEPRs) e proteína C reativa ultrassensível (PCRus) foram determinados por imunoensaios.

Os parâmetros leptina, resistina, PAI-1, TNF α , interleucina 1 β (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6) foram quantificados por imunoensaio com detecção fluorimétrica em célula de fluxo utilizando o sistema *Milliplex* e o equipamento *LuminexTM* (Merck Millipore, NA, EUA). Os dados gerados pelo equipamento foram analisados utilizando-se os programas *Xponent software solutions* versão 3.1.871.0 (Merck Millipore, NA, EUA) e *MilliplexTM Analyst* versão 3.5.5.0 (VigeneTech Inc. Carlisle, USA).

A sensibilidade à insulina foi avaliada utilizando o modelo matemático *Homeostasis Model Assessment* (HOMA). O HOMA prediz o nível de resistência à insulina (HOMA-IR) utilizando os valores de glicemia e a insulinemia basal. O HOMA-IR é calculado pela fórmula: $[HOMA-IR = (glicemia \text{ de jejum (mmol/L)} \times \text{insulina de jejum } (\mu\text{U/m}) / 22,5)]$.

Para classificação do estado de resistência à insulina (RI) foram considerados valores de $HOMA-IR \geq 2,71 \text{ mmol/L} \times \mu\text{U/mL}$ com CA > 87 cm (mulheres) e CA > 95 cm (homens) (SBD, 2018).

3.5 Extração e Análise do DNA genômico

O DNA genômico foi extraído de leucócitos do sangue utilizando-se o sistema *QIAGEN spin-column*, baseado em cromatografia de afinidade, na estação de trabalho robótica para purificação de DNA *QIAcube* (Qiagen Biotecnologia Brasil LTDA, São Paulo, SP).

A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8%, após coloração com corante fluorescente intercalante de ácidos nucleicos, *GelRed™* (Uniscience Corporation, Miami, EUA). A pureza das amostras foi avaliada por espectrofotometria utilizando equipamento *NanoDrop™ 1000 Spectrophotometer* (Uniscience Corporation, Miami, EUA) e quantificadas por fluorometria em equipamento *Qubit® 2.0 fluorometer* (Life Technologies, Inc. Califórnia, EUA).

3.6 Análise de variantes genéticas

Variantes dos genes candidatos foram selecionados a partir de dados da literatura e consulta de ferramentas bioinformáticas disponíveis em bancos de dados públicos (*dbSNP* do *NCBI*, *Ensembl*, *UCSC genome browser*) para acessar informações sobre frequências alélicas em diferentes populações, localização e impacto funcional das variantes. As variantes em *MC3R*, *MC4R*, *IRS1* e *IRS2* selecionadas para este estudo estão descritas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Informações sobre variantes genéticas e ensaios PCR em tempo real.

Gene	Código*	Variante	Tipo/localização	Ensaio**	Alelo/Sondas
<i>IRS1</i>	rs2943634	g.226203364 A>C	intergênica	C__15949769_10	A(VIC)/C(FAM)
<i>IRS2</i>	rs1865434	g.109756261 C>T	3'UTR	C__11928507_1	C(VIC)/T(FAM)
<i>MC3R</i>	rs3746619	c.-95C>A	5'UTR (antiga T6K)	C__22274632_10	A(VIC)/C(FAM)
<i>MC3R</i>	rs3827103	c.130 G>A	missense Val44Ile (antiga V81I)	C__9485713_10	A(VIC)/G(FAM)
<i>MC4R</i>	rs17782313	g.57851097T>C	intergênica	C__32667060_10	C(VIC)/T(FAM)

Nota: *Fonte da informação: dbSNP do NCBI (DBSNP, 2019). **Fonte da informação: Life Technologies, CA, EUA (<https://www.thermofisher.com/order/genome-database/>). FAM e VIC: marcação das sondas alelo-específicas. FAM: 6-carboxi-fluoresceína. VIC: 2-cloro 7-fenil1,4-dicloro6-carboxifluoresceína.

As variantes genéticas foram determinadas por PCR em tempo real pela técnica de discriminação alélica utilizando sondas de amplificação *TaqMan® PCR* (Life Technologies, CA, EUA). Na **Tabela 1**, estão descritas informações sobre os ensaios.

Os iniciadores e as sondas específicas para cada alelo (marcada com fluoróforos FAM e VIC foram adquiridos da Life Tech (Life Technologies, CA, EUA). A solução de *Master Mix* contendo dNTPs (desoxinucleotídeos), *AmpErase® UNG (uracil n-glicosilase)*, enzima *AmpliTaQ Gold® DNA Polymerase* e tampão de reação *Gold PCR Buffer*, assim como o fluoróforo ROX (referência de fluorescência passiva) foram adquiridos da Life Tech (Life Technologies, CA, EUA).

Os ensaios de PCR foram realizados utilizando-se o equipamento *ABI Prism 7500 fast* (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, USA), com o seguinte ciclo de temperaturas: Desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos; 40 ciclos de 95°C por 15 segundos (desnaturação) e 60°C por 1 minuto (hibridização e extensão). Os sinais de fluorescência de cada sonda correspondem aos alelos previamente definidos e permitem identificar os genótipos dos indivíduos. Para aquisição dos dados foi utilizado o programa *7500 Software* versão 2.0.5 (Life Technologies, CA, EUA).

Os sinais de fluorescência emitidos pelos fluoróforos FAM e VIC foram registrados pelo programa *SDS 7500 software* versão 2.0.5 (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia, USA).

3.7 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SPSS versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

O teste *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para avaliar a distribuição dos dados das variáveis contínuas. As variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média e desvio padrão e foram comparadas por teste *t* ou ANOVA *One way* seguida pelo pós-teste de Tukey. As variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana e intervalo interquartil e foram analisadas por testes de *Mann-Whitney* ou *Kruskal-Wallis*, seguido do pós-teste de *Dunn*. As variáveis categóricas foram comparadas por teste de qui-quadrado.

As análises de regressão linear ou logística univariada foram realizadas para avaliar a influência das variantes genéticas sobre adiposidade (CA, IMC, gordura corporal e TMB) e parâmetros metabólicos (HbA1c, RI, insulina, HOMA-IR), inflamatórios (fibrinogênio, PCRus, PAI-1, IL-1 β , IL-6 e TNF α) e adipocinas (leptina e resistina).

Para o estudo da relação das variantes genéticas com as variáveis clínicas, antropométricas, metabólicas, de adipocinas e inflamatórias foi utilizado o modelo de herança codominante, no qual as variáveis são comparadas entre os portadores dos três genótipos (homozigoto comum vs heterozigotos vs homozigoto raro). Também foi utilizado o modelo de herança aditivo dominante, no qual os homozigotos raros foram agrupados com os heterozigotos e comparados com os homozigotos comuns.

Para todas as análises estatísticas realizadas foram consideradas diferenças estatisticamente significativas com valores de *p* inferiores a 0,05.

4. RESULTADOS

4.1 Características do grupo de estudo

As características biodemográficas, clínicas e o perfil antropométrico dos indivíduos dos grupos obeso, sobrepeso e controle são apresentados na **tabela 2**. A idade média e a distribuição de etnia e gênero não diferiram entre os grupos de estudo ($p>0,05$).

Em relação aos dados clínicos, a proporção de hipertensão (46,5%), DT2 (24,7%), dislipidemia (65,3%) e resistência à insulina (51,2%) foi maior no grupo obeso em comparação com os demais grupos (**Tabela 2**, $p<0,001$), impactando diretamente em maior uso de medicamentos para tratamento de doenças metabólicas (74,1%, $p<0,001$). História familiar de DCV, tabagismo e consumo de álcool foram similares entre os grupos ($p>0,05$), mas a prática de atividade física foi menor no grupo obeso (32,4%) quando comparada aos demais grupos ($p=0,014$).

Como esperado, o grupo obeso apresentou maiores valores de IMC, CA, RCQ, taxa de gordura corporal e taxa metabólica basal (TMB) quando comparado aos grupos sobrepeso e controle ($p<0,001$) e o grupo sobrepeso teve maiores valores que o controle ($p<0,001$). As diferenças de CA, RCQ e taxa de gordura corporal entre os grupos de estudo foram observadas tanto nos homens quanto nas mulheres (**Tabela 2**).

Na **tabela 3**, são apresentados dados do perfil metabólico, inflamatório e de adipocinas dos indivíduos estudados. A glicemia de jejum e os valores de HbA1c foram maiores no grupo obeso em comparação com os demais grupos ($p<0,001$). Os valores de insulina sérica e HOMA-IR diferiram entre os três grupos, sendo maiores no grupo obeso, seguido pelo sobrepeso e controle ($p<0,001$).

As concentrações de TG e VLDL colesterol foram maiores e as de HDL colesterol e apo A1 foram menores no grupo obeso em comparação com os demais grupos ($p<0,001$) e no grupo sobrepeso comparado ao grupo controle ($p<0,001$) (**Tabela 3**). As concentrações séricas de colesterol total, LDL colesterol e apo B foram similares entre os três grupos ($p>0,05$).

As concentrações de leptina foram consideravelmente maiores, em homens e mulheres obesos, quando comparados com os grupos sobrepeso e controle ($p < 0,001$). As concentrações de LEPRs foram menores no grupo obeso em comparação com os demais grupos ($p = 0,006$). As concentrações de resistina também foram maiores nos grupos obeso e sobrepeso em comparação ao grupo controle ($p < 0,001$) (**Tabela 3**).

O grupo obeso apresentou maiores concentrações de fibrinogênio, PAI-1, PCRus e IL-6 que os demais grupos ($p < 0,001$). A concentração de IL-1 β foi maior no grupo obeso em relação ao controle ($p = 0,016$). Os grupos obeso e sobrepeso tiveram maiores concentrações de TNF α que o grupo controle ($p = 0,003$) (**Tabela 3**).

Tabela 2. Dados biodemográficos, clínicos e antropométricos dos grupos de estudo.

Variável	Controle (89)	Sobrepeso (99)	Obeso (168)	P1	P2
Idade, anos ^b	48,0 (41,0-53,0)	47,0 (40,0-54,0)	47,5 (37,0-53,0)	0,635	0,342
Etnia (branca), %	67,4 (60)	52,0 (52)	62,9 (107)	0,038	0,491
Mulheres, %	75,3 (67)	63,0 (63)	74,7 (127)	0,062	0,960
Hipertensão, %	18,0 (16)	25,0 (25)	46,5 (79)	0,228	<0,001
DT2, %	2,2 (2)	10,0 (10)	24,7 (42)	0,028	<0,001
Dislipidemia, %	27,0 (24)	39,0 (39)	65,3 (111)	0,071	<0,001
Resistência à insulina, %	1,1 (1)	11,0 (11)	51,2 (87)	0,005	<0,001
Medicamentos, %	36,0 (32)	53,0 (53)	74,1 (126)	0,023	<0,001
História de DCV, %	77,8 (28)	86,5 (45)	91,6 (142)	0,283	0,012
Tabagismo, %	15,7 (14)	15,0 (15)	9,4 (16)	0,917	0,287
Consumo de álcool, %	18,0 (16)	27,0 (27)	16,5 (28)	0,130	0,791
Atividade física, %	51,7 (46)	40,0 (40)	32,4 (48)	0,121	0,003
IMC, Kg/m ² ^b	23,1 (21,6-24,2)	27,3 (26,3-28,4)	35,4 (32,3-41,3)	<0,001	<0,001
CA mulheres, cm ^b	74 (70 -79)	87 (81-92)	105 (96-114)	<0,001	<0,001
CA homens, cm ^b	84 (76-90)	94 (90-101)	113 (105-128)	<0,001	<0,001
RCQ mulheres ^a	0,79 ± 0,08	0,84 ± 0,07	0,87 ± 0,09	<0,001	<0,001
RCQ homens ^a	0,88 ± 0,07	0,93 ± 0,06	0,99 ± 0,08	0,024	<0,001
Gordura corporal, %					
Mulheres ^a	31,7 ± 3,3	36,1 ± 4,5	43,2 ± 5,4	<0,001	<0,001
Homens ^a	21,7 ± 4,7	26,3 ± 2,9	33,0 ± 5,0	<0,001	<0,001
TMB, Kcal ^b	1274 (1140-1435)	1464 (1340-1736)	1721 (1566-2011) ^c	<0,001	<0,001

Nota: Grupos Controle (IMC=18,5-24,9 kg/m²); Sobrepeso (IMC=25,0-29,9 kg/m²); Obeso (IMC ≥ 30,0 kg/m²). Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste qui-quadrado. Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média ± desvio padrão e foram comparadas por teste *t* (^a). As variáveis sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Mann Whitney (^b). p1: sobrepeso vs controle; p2: obeso vs controle. DT2: Diabetes tipo 2; DCV: Doença cardiovascular (inclui fatores de risco como DT2, hipertensão, obesidade); IMC: índice de massa corporal; CA: Circunferência abdominal; RCQ: Relação cintura/quadril; TMB: taxa metabólica basal.

Tabela 3. Perfil metabólico, inflamatório e de adipocinas dos grupos de estudo.

Variável	Controle (89)	Sobrepeso (99)	Obeso (168)	P1	P2
Glicose, mg/dL	90 (82-95)	91 (85-98)	97 (90-104)	0,076	<0,001
HbA1c, %	5,5 (5,3-5,8)	5,7 (5,5-6,0)	5,8 (5,6-6,2)	0,022	<0,001
Insulina, µUI/ml	4,8 (3,3-6,8)	6,8 (5,2-10,5)	16,8 (11,5-25,8)	<0,001	<0,001
HOMA-IR	1,0 (0,7-1,5)	4,3 (2,8-6,5)	5,8 (5,6-6,2)	<0,001	<0,001
CT, mg/dL	199 (177-216)	201 (74-223)	200 (171-225)	0,997	0,900
HDL-c, mg/dL	62 (50-73)	48 (41-58)	48 (41-55)	<0,001	<0,001
LDL-c, mg/dL	117 (96-135)	121 (100-146)	118 (100-143)	0,225	0,366
VLDL-c, mg/dL	16 (12-22)	23 (16-33)	26 (18-37)	<0,001	<0,001
TG, mg/dL	78 (60-112)	117 (79-162)	130 (90-187)	<0,001	<0,001
Apo AI, mg/dL	161 (139-187)	149 (130-170)	141 (123-157)	<0,001	<0,001
Apo B, mg/dL	93 (79-111)	99 (80-121)	103 (84-120)	0,159	0,066
Leptina, ng/mL					
Homens	2,5 (1,2-5,4)	3,4 (2,5-7,6)	14,8 (9,3-23,7)	0,058	<0,001
Mulheres	10,1 (6,2-15,0)	16,7 (10,6-23,7)	27,0 (20,3-35,9)	<0,001	<0,001
LEPRs, ng/mL	22,8 (9,2-31,2)	21,4 (10,9-32,3)	11,4 (9,0-13,7)	0,985	0,017
Resistina, ng/mL	24,2 (16,1-33,1)	32,4 (18,7-38,0)	33,0 (21,4-47,4)	0,028	0,001
Fibrinogênio, mg/dL	310 (269-354)	329 (278-373)	375 (327-426)	0,085	<0,001
PAI-1, ng/mL	65,0 (46,2-83,5)	73,9 (57,8-103,5)	103,3 (58,1-161,6)	0,062	<0,001
PCRus, mg/L	0,08 (0,04-0,37)	0,08 (0,05-0,24)	1,86 (0,28-6,45)	0,658	<0,001
IL-1β, pg/mL	0,35 (0,04-0,60)	0,42 (0,18-0,65)	0,48 (0,30-0,65)	0,217	0,004
IL-6, pg/mL	0,7 (0,08-2,20)	1,05 (0,50-2,05)	2,05 (0,84-3,88)	0,137	<0,001
TNFα, pg/mL	2,12 (0,72-3,86)	3,40 (1,30-4,60)	3,40 (1,97-5,03)	0,046	<0,001

Nota: Grupos controle (IMC=18,5-24,9 kg/m²); Sobrepeso (IMC=25,0-29,9 kg/m²); Obeso (IMC ≥ 30,0 kg/m²). Variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Mann Whitney. p1: sobrepeso vs controle; p2: obeso vs. controle. HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; apo AI: apolipoproteína AI; apo B: apolipoproteína B; LEPRs: receptor de leptina solúvel; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1β: Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNFα: Fator de necrose tumoral alfa.

4.2 Frequência de variantes genéticas

Foram analisadas as variantes *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C), *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T), *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A), *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) e *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C), de 350 indivíduos dos 359 selecionados para o estudo. Os resultados das frequências alélicas e genótípicas dessas variantes são apresentados nas **tabelas 4 e 5**. As distribuições genótípicas dessas variantes foram similares às esperadas de acordo com a análise do EHW ($p>0,05$).

As variantes *IRS1* rs2943634 A>C e *IRS2* rs1865434 C>T (**Tabela 4**) e *MC3R* c.-95C>A *MC4R* rs17782313 T>C, (**Tabela 5**) tiveram frequências similares entre os grupos de estudo ($p>0,05$). A frequência do genótipo AA da variante *MC3R* c.130G>A foi maior nos grupos sobrepeso (9,1%) e obeso (3,1%) que no grupo controle (1,3%, $p=0,044$) (**Tabela 5**).

Tabela 4. Frequências das variantes em *IRS1* e *IRS2* nos grupos de estudo

Grupos	IRS1 rs2943634 (g.226203364 A>C)					
	Genótipos			Alelos		MAF*
	CC	AC	AA	C	A	A
Total (349)	39,5% (138)	42,4% (148)	18,1% (63)	61,0%	39,0%	32,0%
Controle (88)	43,2% (38)	39,8% (35)	17,0% (15)	63,0%	37,0%	p=0,301
Sobrepeso (99)	42,4% (42)	40,4% (40)	17,2% (17)	63,0%	37,0%	
Obeso (162)	35,8% (58)	45,1% (73)	19,1% (31)	58,0%	42,0%	
EHW: p>0,05	χ² = 1,780; p= 0,776			χ² = 1,483; p=0,477		
	IRS2 rs1865434 (g.109756261 C>T)					
	TT	CT	CC	T	C	C
Total (345)	71,9% (248)	24,9% (86)	3,2% (11)	84,0%	16,0%	17,8
Controle (86)	70,9% (61)	25,6% (22)	3,5% (3)	84,0%	16,0%	p=707
Sobrepeso (95)	71,6% (68)	26,3% (25)	2,1% (2)	85,0%	15,0%	
Obeso (164)	72,6% (119)	23,8% (39)	3,7% (6)	84,0%	16,0%	
EHW: p>0,05	χ² = 0,685; p=0,953			χ² = 0,1209; p= 0,941		

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste de qui-quadrado. EHW: Equilíbrio de Hardy-Weinberg. MAF: frequência do alelo raro (*Minor allele frequency*). *fonte: Projeto 1000 genomas.

Tabela 5. Frequências das variantes em *MC3R* e *MC4R* nos grupos de estudo.

Grupos	MC3R rs3746619 (c.-95C>A)					
	Genótipos			Alelos		MAF*
	CC	AC	AA	C	A	A
Total (350)	64,6% (226)	30,9% (108)	4,6% (16)	80,0%	20,0%	26,0%
Controle (88)	69,3% (61)	28,4% (25)	2,3% (2)	84,0%	16,0%	p=0,313
Sobrepeso (97)	60,8% (59)	30,9% (30)	8,2% (8)	76,0%	24,0%	
Obeso (165)	64,2% (106)	32,1% (53)	3,6% (6)	80,0%	20,0%	
EHW: p>0,05	χ² = 4,977; p= 0,290			χ² = 3,054; p=0,217		
	MC3R rs3827103 (c.130G>A)					
	GG	AG	AA	G	A	A
Total (329)	66,9% (220)	28,9% (95)	4,3% (14)	81,0%	19,0%	25,0%
Controle (78)	71,8% (56)	26,9% (21)	1,3% (1)	85,0%	15,0%	p=0,306
Sobrepeso (88)	68,2% (60)	22,7% (20)	9,1% (8)	80,0%	20,0%	
Obeso (163)	63,8% (104)	33,1% (54)	3,1% (5)	80,0%	20,0%	
EHW: p>0,05	χ² = 9,807; p=0,044			χ² = 2,149; p= 0,341		
	MC4R rs17782313 (g.57851097 T>C)					
	TT	TC	CC	T	C	C
Total (353)	65,4% (231)	27,8% (98)	6,8% (24)	79,3%	20,6%	24,0%
Controle (89)	70,8% (63)	25,8% (23)	3,4% (3)	84,0%	16,0%	p=0,611
Sobrepeso (99)	66,7% (66)	26,3% (26)	7,0% (7)	80,0%	20,0%	
Obeso (165)	61,8% (102)	29,7% (49)	8,5% (14)	77,0%	23,0%	
EHW: p>0,05	χ² = 3,402; p=0,493			χ² = 3,533; p=0,171		

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e comparadas por teste de qui-quadrado. EHW: Equilíbrio de Hardy-Weinberg. MAF: frequência do alelo raro (*Minor allele frequency*). *fonte: Projeto 1000 genomas.

4.3 Relação de variantes em *IRS1* e *IRS2* com outras variáveis no grupo total

Nas **tabelas 6 a 9**, são apresentados os resultados da análise de relação das variantes *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) e *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) com as variáveis clínicas, antropométricas, metabólicas, adipocinas e inflamatórias, no grupo total. Essas variantes não foram associadas com as variáveis clínicas e antropométricas, neste trabalho (**Tabelas 6 e 8**).

Para a variante *IRS1* rs2943634 A>C os portadores do alelo A (genótipo AC ou AA) tiveram maiores concentrações de fibrinogênio e de PCRus tanto no modelo codominante (CCvsACvsAA) quanto no dominante (CCvsAC+AA) ($p<0,05$). Por outro lado, essa variante não foi associada com as demais variáveis metabólicas e inflamatórias ($p>0,05$) (**Tabela 7**).

Para a variante *IRS2* rs1865434 C>T a concentração de leptina foi menor nos homens portadores do alelo C (genótipos CC+CT) comparada com a dos portadores do genótipo TT ($p=0,044$). A concentração de resistina também foi menor nos portadores do alelo C comparada com a dos portadores do genótipo TT ($p=0,011$) (**Tabela 9**).

Tabela 6. Relação da variante *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total

Variável	Genótipos			P [#]	P [*]
	CC (138)	AC (148)	AA (63)		
Hipertensão, %	34,1 (47)	32,4 (48)	34,9 (22)	0,927	0,864
DT2, %	16,7 (23)	14,2 (21)	14,3 (9)	0,823	0,533
Dislipidemia, %	53,6 (74)	45,9 (68)	46,0 (29)	0,376	0,162
Resistencia à insulina, %	25,4 (35)	28,4 (42)	30,2 (19)	0,742	0,468
Histórico de DCV, %	87,1 (81)	91,1 (92)	86,0 (37)	0,575	0,556
IMC, Kg/m ² ^b	28,5 (24,7-35,0)	29,7 (25,3-35,0)	29,2 (25,3-35,4)	0,643	0,353
CA mulheres, cm ^b	90 (78-100)	87 (78-100)	90 (79-107)	0,629	0,968
CA homens, cm ^b	98 (90-110)	101 (91-110)	106 (91-114)	0,558	0,381
RCQ mulheres ^a	0,84 ± 0,09	0,84 ± 0,08	0,84 ± 0,08	0,900	0,692
RCQ homens ^a	0,95 ± 0,09	0,94 ± 0,08	0,96 ± 0,08	0,836	0,944
Gordura corporal, %					
Mulheres ^a	37,8 ± 6,3	39,1 ± 7,6	38,4 ± 6,8	0,445	0,238
Homens ^a	27,3 ± 5,91	29,1 ± 6,34	28,5 ± 6,55	0,402	0,186
TMB, Kcal ^b	1508 (1303-1830)	1561 (1347-1819)	1525 (1321-1773)	0,759	0,519

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste de qui-quadrado. Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média (desvio padrão) e comparadas por teste ANOVA (^a). Variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis (^b). P[#]: modelo de herança codominante (CCvsACvsAA); p^{*}: modelo de herança dominante (CCvsAC+AA). DT2: Diabetes tipo 2; DCV: Doença cardiovascular (inclui fatores de risco como DT2, hipertensão, obesidade); IMC: índice de massa corporal; CA: Circunferência abdominal; RCQ: Relação cintura/quadril; TMB: taxa metabólica basal.

Tabela 7. Relação da variante *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total

Variável	Genótipos			<i>p</i> [#]	<i>p</i> [*]
	CC (138)	AC (148)	AA (63)		
Glicose, mg/dL	92 (88-100)	94 (87-102)	94 (87-104)	0,825	0,549
HbA1c, %	5,7 (5,4-6,0)	5,7 (5,4-6,0)	5,7 (5,4-6,0)	0,887	0,677
Insulina, µU/mL	8,3 (5,1-15,7)	8,5 (5,1-17,1)	7,9 (5,3-18,6)	0,839	0,595
HOMA-IR	1,9 (1,1-3,8)	2,0 (1,2-4,2)	2,0 (1,2-4,9)	0,737	0,536
CT, mg/dL	198 (170-224)	200 (144-225)	200 (172-215)	0,762	0,725
HDL-c, mg/dL	50 (41-62)	50 (44,0-59,0)	51 (44,0-61,0)	0,690	0,477
LDL-c, mg/dL	118 (100-143)	119 (99-143)	116 (96-140)	0,758	0,846
VLDL-c, mg/dL	23 (16-33)	22 (15-34)	23 (15-34)	0,893	0,715
TG, mg/dL	113 (79-167)	112 (76-168)	116 (77-165)	0,899	0,684
Apo A1, mg/dL	146 (127-172)	143 (125-162)	156 (137-172)	0,106	0,584
Apo B, mg/dL	95 (79-110)	101 (85-121)	102 (79-119)	0,153	0,065
Leptina, ng/mL					
Homens	5,5 (2,3-14,8)	7,6 (3,4-16,7)	7,5 (2,1-12,0)	0,307	0,246
Mulheres	18,4 (9,7-29,3)	17,1 (10,6-29,3)	21,1(13,4-32,0)	0,469	0,430
LEPRs, ng/mL	12,3 (9,7-32,9)	11,3 (8,3-21,4)	11,6 (9,3-22,9)	0,285	0,132
Resistina, ng/mL	30,5 (19,2-37,3)	28,7 (18,1-40,6)	29,4 (17,3-42,3)	0,933	0,827
Fibrinogênio, mg/dL	326 (279-383) ^a	345 (295-396) ^{a,b}	354(317-416) ^b	0,045	0,035
PAI-1, ng/mL	73,4 (51,5-128,2)	81,2 (57,8-114,9)	81,0 (61,0-146,6)	0,253	0,161
PCRus, mg/L	0,17 (0,05-1,30) ^a	0,40 (0,08-2,90) ^b	1,30 (0,08-6,01) ^b	0,003	0,002
IL-1β, pg/mL	0,46 (0,32-0,66)	0,41 (0,22-0,65)	0,35 (0,15-0,57)	0,140	0,109
IL-6, pg/mL	1,40 (0,58-2,84)	1,6 (0,50-2,87)	1,41 (0,43-3,10)	0,789	0,510
TNFα, pg/mL	3,12 (1,32-4,74)	3,25 (1,41-5,00)	2,96 (1,26-4,22)	0,754	0,945

Nota: Variáveis contínuas são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas por teste *post-hoc* de Dunn. ^{a,b,c} Letras diferentes indicam diferenças de valores entre os grupos ($p < 0,05$). As variáveis do modelo de herança dominante foram comparadas por teste de Mann Whitney. [#]: modelo de herança codominante (CCvsACvsAA); ^{*}: modelo de herança dominante (CCvsAC+AA). HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; apo A1: apolipoproteína A1; apo B: apolipoproteína B; LEPRs: receptor de leptina solúvel; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1β: Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrassensível; TNFα: Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 8. Relação da variante *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total

Variável	Genótipos			p [#]	p [*]
	TT (225)	CT (86)	CC (34)		
Hipertensão, %	54,5 (6)	32,6 (28)	33,9 (84)	0,343	0,835
DT2, %	9,1 (1)	11,6 (10)	16,9 (42)	0,481	0,195
Dislipidemia, %	36,4 (4)	54,7 (47)	48,4 (120)	0,408	0,484
Resistencia à insulina, %	27,0 (67)	30,2 (26)	27,3 (3)	0,848	0,591
Histórico de DCV, %	85,7 (6)	93,9 (62)	86,7 (144)	0,286	0,150
IMC, Kg/m ² ^b	30,9 (24,6-33,3)	28,8 (24,9-36,1)	29,2 (25,2-35,1)	0,980	0,304
CA mulheres, cm ^b	89 (79-100)	98 (78-106)	87 (72-109)	0,670	0,566
CA homens, cm ^b	101 (90-114)	98 (90-105)	100 (87-106)	0,610	0,325
RCQ mulheres ^a	0,84±0,09	0,84±0,09	0,80±0,10	0,265	0,781
RCQ homens ^a	0,95±0,09	0,95±0,09	0,89±0,05	0,533	0,768
Gordura corporal, %					
Mulheres ^a	38,4±6,9	39,9±6,8	35,8±6,1	0,197	0,358
Homens ^a	28,3±6,1	28,1±6,6	29,9±2,3	0,888	0,953
TMB, Kcal ^b	1615(1296-1893)	1599(1408-1803)	1517 (1300-1819)	0,266	0,228

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste de qui-quadrado. Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média (desvio padrão) e comparadas por teste ANOVA (^a). Variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis (^b). P[#]: modelo de herança codominante (TTvsCTvsCC); p^{*}: modelo de herança dominante (TTvsCT+CC). DT2: Diabetes tipo 2; DCV: Doença cardiovascular (inclui fatores de risco como DT2, hipertensão, obesidade); IMC: índice de massa corporal; CA: Circunferência abdominal; RCQ: Relação cintura/quadril; TMB: taxa metabólica basal.

Tabela 9. Relação da variante *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total

Variável	Genótipos			<i>p</i> [#]	<i>p</i> [*]
	TT (225)	CT (86)	CC (34)		
Glicose, mg/dL	93 (87-102)	94 (87-104)	94 (90-101)	0,836	0,602
HbA1c, %	5,7 (5,4-6,1)	5,7 (5,5-6,0)	5,7 (5,4-5,9)	0,925	0,697
Insulina, µU/mL	8,6 (5,3-17,2)	8,2 (4,9-14,9)	12,2 (4,5-20,1)	0,902	0,829
HOMA-IR	2,0 (1,2-4,3)	1,9 (1,2-4,3)	2,9 (1,1-4,8)	0,937	0,927
CT, mg/dL	199 (174-220)	202 (168-218)	190 (157-236)	0,721	0,613
HDL-c, mg/dL	50 (42-60)	50 (44-62)	51 (38-80)	0,861	0,746
LDL-c, mg/dL	119 (101-143)	116 (93-140)	117 (90-127)	0,220	0,114
VLDL-c, mg/dL	22 (16-32)	23(15-37)	14 (12-33)	0,247	0,857
TG, mg/dL	112 (78-160)	117 (76-186)	69 (60-167)	0,248	0,864
Apo AI, mg/dL	146 (128-171)	148 (128-166)	147 (131-177)	0,854	0,632
Apo B, mg/dL	102 (82-119)	99 (80-120)	87 (82-96)	0,275	0,178
Leptina, ng/mL					
Homens	10,5 (3,3-19,1)	4,9 (2,9-10,6)	7,2 (4,7-7,5)	0,111	0,044
Mulheres	18,9 (10,3-29,3)	18,7 (11,6-33,2)	22,3 (16,8-31,6)	0,400	0,254
LEPRs, ng/mL	12,2 (10,0-26,6)	10,5 (6,3-22,8)	11,1 (10,8-11,4)	0,294	0,057
Resistina, ng/mL	31,7 (22,3-40,7) ^a	26,0(14,9-38,0) ^a	17,6 (12,4-26,2) ^b	0,010	0,011
Fibrinogênio, mg/dL	348 (300-402)	317 (274-380)	334 (267-394)	0,090	0,676
PAI-1, ng/mL	80,8 (56,6-133,1)	70,5(53,2-117,4)	86,4 (67,5-139,3)	0,384	0,203
PCRus, mg/L	0,43 (0,08-2,90)	0,15 (0,06-2,88)	0,56 (0,05-1,44)	0,748	0,825
IL-1β, pg/mL	0,45 (0,29-0,65)	0,40 (0,23-0,59)	0,39 (0,33-0,65)	0,582	0,303
IL-6, pg/mL	1,60 (0,56-3,10)	1,11 (0,50-2,80)	0,76 (0,53-2,24)	0,509	0,400
TNFα, pg/mL	3,37 (1,62-4,91)	2,76 (1,20-4,40)	2,52 (1,10-6,00)	0,380	0,175

Nota: Variáveis contínuas são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas por teste *post-hoc* de Dunn. ^{a,b,c} Letras diferentes indicam diferenças de valores entre os grupos ($p<0,05$). As variáveis do modelo de herança dominante foram comparadas por teste de Mann Whitney. P[#]: modelo de herança codominante (TTvsCTvsCC); p^{*}: modelo de herança dominante (TTvsCT+CC). HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; apo AI: apolipoproteína AI; apo B: apolipoproteína B; LEPRs: receptor de leptina solúvel; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1β: Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrassensível; TNFα: Fator de necrose tumoral alfa.

4.4 Relação de variantes em *MC3R* e *MC4R* com outras variáveis no grupo total

Os resultados das variantes *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A), *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) e *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C), no grupo total, são apresentados nas **tabelas 10 a 15**. Essas variantes também não foram associadas com diferenças nos parâmetros clínicos e antropométricos (**Tabelas 10, 12 e 14**).

Para a variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A), os valores de HbA1c foram maiores nos portadores do alelo A (genótipos AA+AC) comparados aos dos portadores do genótipo CC ($p=0,040$) (**Tabela 11**).

Para a variante *MC3R* rs3827103 (c.130G>A), os portadores do alelo A (genótipos AG+AA) apresentaram menor concentração de apo AI que os portadores do genótipo GG ($p=0,046$) (**Tabela 13**).

Para a variante *MC4R* g.57851097 T>C os portadores do genótipo CC tiveram maiores concentrações de fibrinogênio que os portadores dos genótipos TC e TT ($p=0,027$). Bem como, maiores concentrações de PCRus nos portadores do alelo C (TC ou CC) tanto no modelo codominante (CCvsACvsAA) quanto no dominante (TTvsCC+TC) (**Tabela 15**).

Tabela 10. Relação da variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total

Variável	Genótipos			p [#]	p [*]
	CC (226)	AC (108)	AA (16)		
Hipertensão, %	31,9 (72)	37,0 (40)	31,3 (5)	0,632	0,401
DT2, %	13,7 (31)	17,6 (19)	12,5 (2)	0,625	0,418
Dislipidemia, %	50,0 (113)	46,3 (50)	56,3 (9)	0,691	0,665
Resistência à insulina, %	27,0 (61)	28,7 (31)	31,3 (5)	0,900	0,683
Histórico de DCV, %	91,4 (139)	84,2 (64)	90,9 (10)	0,250	0,127
IMC, Kg/m ² ^b	29,0 (24,7-35,2)	29,5 (25,2-35,4)	28,5 (26,6-33,3)	0,858	0,582
CA mulheres, cm ^b	90 (80-101)	88 (77-107)	98 (85-100)	0,703	0,654
CA homens, cm ^b	98 (90-106)	105 (93-117)	101(90-103)	0,152	0,082
RCQ mulheres ^a	0,84 ± 0,09	0,84 ± 0,07	0,87 ± 0,13	0,493	0,677
RCQ homens ^a	0,94 ± 0,08	0,97 ± 0,10	0,91 ± 0,04	0,199	0,315
Gordura corporal, %					
Mulheres ^a	38,5 ± 7,2	38,4 ± 6,0	38,5 ± 7,6	0,994	0,906
Homens ^a	27,7 ± 6,23	29,6 ± 6,38	26,2 ± 2,98	0,299	0,280
TMB, Kcal ^b	1526(1322-1766)	1558(1322-1867)	1561(1403-1915)	0,429	0,314

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste de qui-quadrado. Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média (desvio padrão) e comparadas por teste ANOVA (^a). Variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis (^b). As variáveis do modelo de herança dominante foram comparadas por teste de Mann Whitney. P[#]: modelo de herança codominante (CCvsACvsAA); p^{*}: modelo de herança dominante (CCvsAC+AA). DT2: Diabetes tipo 2; DCV: Doença cardiovascular (inclui fatores de risco como DT2, hipertensão, obesidade); IMC: índice de massa corporal; CA: Circunferência abdominal; RCQ: Relação cintura/quadril; TMB: taxa metabólica basal.

Tabela 11. Relação da variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total

Variável	Genótipos			p [#]	p [*]
	CC (226)	AC (108)	AA (16)		
Glicose, mg/dL	93 (87-100)	94 (87-104)	90 (88-101)	0,653	0,489
HbA1c, %	5,7 (5,4-6,0)	5,8 (5,5-6,1)	5,7 (5,6-6,0)	0,253	0,040
Insulina, µU/mL	8,1 (5,0-16,8)	9,3 (5,6-16,3)	12,3 (5,3-21,7)	0,654	0,557
HOMA-IR	1,9 (1,1-4,0)	2,2 (1,2-4,4)	2,3 (1,2-6,4)	0,611	0,323
CT, mg/dL	199 (172-222)	204 (176-227)	191 (165-204)	0,121	0,887
HDL-c, mg/dL	50 (43-63)	50 (44-58)	46 (41-56)	0,479	0,451
LDL-c, mg/dL	118 (100-143)	122 (100-143)	106 (95-121)	0,140	0,961
VLDL-c, mg/dL	23 (16-33)	22 (15-34)	23 (13-32)	0,918	0,954
TG, mg/dL	112 (79-167)	112 (76-168)	116 (67-162)	0,920	0,958
Apo AI, mg/dL	149 (130-172)	142 (125-165)	147 (124-170)	0,325	0,193
Apo B, mg/dL	101 (82-119)	99 (84-122)	78 (67-106)	0,056	0,817
Leptina, ng/mL					
Homens	5,6 (2,8-14,2)	8,4 (3,5-19,1)	11,6 (4,0-19,6)	0,362	0,176
Mulheres	18,2 (10,0-30,1)	21,2 (12,0-29,3)	18,4 (13,1-29,3)	0,806	0,530
LEPRs, ng/mL	11,6 (10,1-27,1)	12,3 (8,3-28,0)	12,1 (5,6-22,8)	0,942	0,870
Resistina, ng/mL	28,7 (17,6-38,2)	32,0 (22,8-42,8)	30,9 (17,3-50,5)	0,384	0,167
Fibrinogênio, mg/dL	337 (280-395)	356 (306-407)	314 (294-411)	0,141	0,144
PAI-1, ng/mL	76,0 (53,2-129,8)	74,8 (55,9-115,7)	82,6 (54,6-133,1)	0,892	0,902
PCRus, mg/L	0,36 (0,07-2,20)	0,42 (0,08-3,84)	0,20 (0,05-2,03)	0,508	0,748
IL-1β, pg/mL	0,44 (0,29-0,65)	0,40 (0,22-0,65)	0,50 (0,30-0,71)	0,672	0,575
IL-6, pg/mL	1,53 (0,60-2,87)	0,90 (0,50-3,10)	1,74 (0,80-2,83)	0,476	0,404
TNFα, pg/mL	3,17 (1,45-4,90)	3,10 (1,16-4,74)	3,40 (1,46-4,40)	0,949	0,750

Nota: Variáveis contínuas são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis. As variáveis do modelo de herança dominante foram comparadas por teste de Mann Whitney. p[#]: modelo de herança codominante (CCvsACvsAA); p^{*}: modelo de herança dominante (CCvsAC+AA). HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; apo AI: apolipoproteína AI; apo B: apolipoproteína B; LEPRs: receptor de leptina solúvel; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1β: Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrassensível; TNFα: Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 12. Relação da variante *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total

Variável	Genótipos			p [#]	p [*]
	GG (220)	AG (95)	AA (14)		
Hipertensão, %	31,8 (70)	37,9 (36)	35,7 (5)	0,571	0,295
DT2, %	13,6 (30)	20,0 (19)	14,3 (2)	0,356	0,184
Dislipidemia, %	51,4 (113)	51,6 (49)	57,1 (8)	0,916	0,874
Resistência à insulina, %	30,5 (67)	40,0 (38)	35,7 (5)	0,253	0,104
Histórico de DCV, %	90,8 (138)	85,5 (65)	90,0 (9)	0,484	0,260
IMC, Kg/m ² ^b	28,9 (24,9-35,3)	31,2 (25,4-36,1)	28,7 (26,7-33,6)	0,465	0,216
CA mulheres, cm ^b	90 (81-104)	92 (79-110)	100 (85-100)	0,669	0,661
CA homens, cm ^b	98 (90-108)	104 (94-120)	96 (88-108)	0,125	0,076
RCQ mulheres ^a	0,84 ± 0,09	0,85 ± 0,07	0,90 ± 0,119	0,143	0,232
RCQ homens ^a	0,94 ± 0,08	0,97 ± 0,09	0,91 ± 0,04	0,215	0,280
Gordura corporal, %					
Mulheres ^a	38,9 ± 7,1	39,2 ± 6,5	39,3 ± 7,4	0,935	0,709
Homens ^a	27,7 ± 6,2	29,7 ± 6,4	27,8 ± 3,2	0,227	0,217
TMB, Kcal ^b	1547(1322-1773)	1596(1347-1927)	1561(1432-1904)	0,250	0,100

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste de qui-quadrado. Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média (desvio padrão) e comparadas por teste ANOVA (^a). Variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis (^b). P[#]: modelo de herança codominante (TGGvsAGvsAA); p^{*}: modelo de herança dominante (GGvsAG+AA). DT2: Diabetes tipo 2; DCV: Doença cardiovascular (inclui fatores de risco como DT2, hipertensão, obesidade); IMC: índice de massa corporal; CA: Circunferência abdominal; RCQ: Relação cintura/quadril; TMB: taxa metabólica basal.

Tabela 13. Relação da variante *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total

Variável	Genótipos			p [#]	p [*]
	GG (220)	AG (95)	AA (14)		
Glicose, mg/dL	93 (87-101)	94 (87-104)	90 (88-103)	0,683	0,408
HbA1c, %	5,7 (5,4-6,0)	5,8 (5,5-6,1)	5,6 (5,6-5,9)	0,253	0,117
Insulina, µU/mL	8,1 (5,0-17,0)	11,2 (5,6-17,0)	12,3 (5,3-24,9)	0,404	0,454
HOMA-IR	1,9 (1,1-4,1)	2,6 (1,2-4,6)	2,3 (1,2-6,4)	0,375	0,164
CT, mg/dL	199 (175-226)	204 (171-226)	191 (169-201)	0,228	0,665
HDL-c, mg/dL	50 (43-62)	50 (43-57)	46 (41-52)	0,425	0,318
LDL-c, mg/dL	118 (101-146)	121 (95-143)	107(96-124)	0,309	0,596
VLDL-c, mg/dL	23 (16-34)	22 (15-35)	24 (14-32)	0,978	0,881
TG, mg/dL	115 (82-167)	112 (77-177)	118 (69-162)	0,975	0,858
Apo AI, mg/dL	149 (130-172)	140 (123-157)	147 (139-172)	0,067	0,046
Apo B, mg/dL	101 (82-119)	95 (81-121)	93 (70-106)	0,251	0,488
Leptina, ng/mL					
Homens	5,6 (2,8-2,8)	9,3 (3,5-19,1)	7,8 (3,1-21,8)	0,389	0,176
Mulheres	19,4 (10,4-29,9)	21,5 (13,0-31,6)	19,1 (14,2-29,3)	0,560	0,297
LEPRs, ng/mL	11,6 (9,6-24,6)	11,5 (7,4-21,7)	11,3 (5,6-12,1)	0,611	0,411
Resistina, ng/mL	29,1 (17,6-38,7)	32,4 (22,8-41,6)	30,9 (17,3-50,5)	0,495	0,237
Fibrinogênio, mg/dL	333 (280-395)	354(305-407)	313(294-411)	0,156	0,132
PAI-1, ng/mL	75,6 (52,5-126,6)	84,5 (55,9-143,6)	84,7 (67,5-133,1)	0,575	0,365
PCRus, mg/L	0,45 (0,07-2,40)	0,43 (0,08-4,57)	0,11 (0,04-2,17)	0,206	0,397
IL-1β, pg/mL	0,44 (0,29-0,64)	0,42 (0,26-0,65)	0,50 (0,40-0,71)	0,588	0,743
IL-6, pg/mL	1,6 (0,6-2,9)	1,1 (0,5-3,2)	1,8 (0,8-3,2)	0,644	0,822
TNFα, pg/mL	3,2 (1,5-4,9)	3,5 (1,4-5,5)	3,4 (2,1-4,4)	0,626	0,395

Nota: Variáveis contínuas são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis. As variáveis do modelo de herança dominante foram comparadas por teste de Mann Whitney. p[#]: modelo de herança codominante (TGGvsAGvsAA); p^{*}: modelo de herança dominante (GGvsAG+AA). HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; apo AI: apolipoproteína AI; apo B: apolipoproteína B; LEPRs: receptor de leptina solúvel; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1β: Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrassensível; TNFα: Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 14. Relação da variante *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C) com variáveis clínicas e antropométricas no grupo total

Variável	Genótipos			p [#]	p [*]
	TT (231)	TC (98)	CC (24)		
Hipertensão, %	35,5 (82)	31,6 (31)	25,0 (6)	0,513	0,328
DT2, %	16,0 (37)	13,3 (13)	16,7 (4)	0,803	0,605
Dislipidemia, %	50,6 (117)	44,9 (44)	45,8 (11)	0,607	0,320
Resistência à insulina, %	33,3 (77)	25,5 (25)	41,7 (10)	0,210	0,373
Histórico de DCV, %	88,8 (143)	87,5 (56)	92,9 (13)	0,845	0,935
IMC, Kg/m ² ^b	28,5 (24,7-34,6)	30,0 (25,2-36,4)	31,3 (26,6-35,2)	0,346	0,178
CA mulheres, cm ^b	88 (79-99)	93 (78-107)	94 (80-107)	0,478	0,298
CA homens, cm ^b	101 (90-110)	95 (91-116)	94 (91-117)	0,997	0,958
RCQ mulheres ^a	0,84 ± 0,09	0,8 4± 0,09	0,8 6± 0,07	0,437	0,436
RCQ homens ^a	0,94 ± 0,09	0,95 ± 0,08	0,9 7± 0,03	0,792	0,506
Gordura corporal, %					
Mulheres ^a	38,3 ± 6,9	39,7 ± 7,5	39,1 ± 5,1	0,833	0,583
Homens ^a	28,5 ± 6,4	27,8 ± 6,0	29,5 ± 3,6	0,842	0,695
TMB, Kcal ^b	1504(1315-1787)	1599(1403-1892)	1564(1370-1667)	0,255	0,157

Nota: Variáveis categóricas são apresentadas em porcentagem (número de indivíduos) e foram comparadas por teste de qui-quadrado. Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como média (desvio padrão) e comparadas por teste ANOVA (^a). Variáveis contínuas sem distribuição normal são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis (^b). P[#]: modelo de herança codominante (TTvsTCvsCC); p^{*}: modelo de herança dominante (TTvsTC+CC). DT2: Diabetes tipo 2; DCV: Doença cardiovascular (inclui fatores de risco como DT2, hipertensão, obesidade); IMC: índice de massa corporal; CA: Circunferência abdominal; RCQ: Relação cintura/quadril; TMB: taxa metabólica basal.

Tabela 15. Relação da variante *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C) com marcadores metabólicos, inflamatórios e adipocinas no grupo total

Variável	Genótipos			<i>p</i> [#]	<i>p</i> [*]
	TT (231)	TC (98)	CC (24)		
Glicose, mg/dL	93 (87-103)	93 (88-98,	94 (88-102)	0,783	0,880
HbA1c, %	5,7 (5,5-6,1)	5,7 (5,4-5,9)	5,6 (5,2-6,0)	0,191	0,081
Insulina, µU/mL	8,2 (5,3-16,2)	7,4 (4,7-16,9)	11,9 (7,5-20,5)	0,281	0,965
HOMA-IR	1,9 (1,2-4,4)	1,8 (1,0-3,9)	2,9 (1,9-4,6)	0,215	0,817
CT, mg/dL	202 (172-227)	191 (172-212)	203 (178-229)	0,165	0,166
HDL-c, mg/dL	50 (43-64)	50 (43-58)	46 (42-54)	0,389	0,250
LDL-c, mg/dL	120 (98-146)	112 (101-131)	120 (108-151)	0,191	0,354
VLDL-c, mg/dL	23 (16-32)	22 (15-34)	21 (16-39)	0,935	0,973
TG, mg/dL	113 (78-160)	111 (73-170)	107 (82-197)	0,938	0,951
Apo AI, mg/dL	149 (127-172)	146 (131-166)	137 (129-156)	0,502	0,476
Apo B, mg/dL	101 (81-120)	94 (81-107)	107 (79-135)	0,447	0,688
Leptina, ng/mL					
Homens	6,2 (3,1-15,2)	7,2 (3,1-14,2)	21,5 (2,5-48,5)	0,541	0,555
Mulheres	19,1 (10,3-30,1)	18,6 (11,6-30,0)	12,2 (6,5-22,9)	0,184	0,652
LEPRs, ng/mL	12,1 (10,1-28,6)	11,2 (9,2-22,1)	11,4 (6,0-14,9)	0,280	0,182
Resistina, ng/mL	32,0 (18,7-40,7)	25,2 (15,7-35,9)	30,5 (26,5-38,4)	0,085	0,083
Fibrinogênio, mg/dL	340 (288-398) ^a	342 (289,390) ^a	386 (327-415) ^b	0,027	0,483
PAI-1, ng/mL	79,0 (59,5-126,6)	64,6 (43,8-133,7)	82,2 (65,8-117,7)	0,114	0,088
PCRus, mg/L	0,25 (0,07-2,10) ^a	0,50 (0,08-3,62) ^a	1,44 (0,40-2,93) ^b	0,032	0,036
IL-1β, pg/mL	0,42 (0,22-0,61)	0,45 (0,29-0,71)	0,45 (0,14-0,58)	0,385	0,335
IL-6, pg/mL	1,41 (0,60-3,10)	1,20 (0,50-2,87)	0,58 (0,33-1,88)	0,115	0,213
TNFα, pg/mL	3,34 (1,43-4,91)	3,07 (1,22-4,86)	2,31 (0,71-3,50)	0,182	0,220

Nota: Variáveis contínuas são apresentadas como mediana (intervalo interquartil) e foram comparadas por teste Kruskal-Wallis. As variáveis do modelo de herança dominante foram comparadas por teste de Mann Whitney. P[#]: modelo de herança codominante (TTvsTCvsCC); p^{*}: modelo de herança dominante (TTvsTC+CC). HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; apo AI: apolipoproteína AI; apo B: apolipoproteína B; LEPRs: receptor de leptina solúvel; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1β: Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNFα: Fator de necrose tumoral alfa.

4.5 Análise de regressão logística

A análise de regressão logística univariada foi utilizada para avaliar a associação das variantes genéticas e com adiposidade e parâmetros metabólicos, inflamatórios e adipocinas. Para esta análise os alelos raros (modelo de herança dominante) foram utilizados como variáveis independentes. Os valores das variáveis contínuas foram divididos em quartis. O risco foi calculado utilizando o quartil 4 (valores maiores) como valor de corte para as variáveis dependentes analisadas.

O alelo A da variante *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) está associado com maior risco de ter PCRus aumentado (OR = 2,187, IC95% = 1,237-3,866, p=0,007), mas não com adiposidade e as demais variáveis (**Tabela 16**).

As variantes *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T), *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A), e *MC4R* rs17782313 T>C não foram associados com as variáveis estudadas pela análise de regressão logística (**Tabelas 16 a 18**). Exceto o alelo A da variante *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) que está associado com maior probabilidade de TMB aumentada (OR = 1,714, IC95% = 1,011-2,906, p=0,045) (**Tabela 17**).

Tabela 16. Associação das variantes *IRS1* rs2943634 A>C e *IRS2* rs2943634 C>T com adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão logística.

Variável dependente	<i>IRS1</i> rs2943634 (alelo A)		<i>IRS2</i> rs1865434 (alelo C)	
	OR (IC95%)	P	OR (IC95%)	P
CA, homens	1,033 (0,406-2,632)	0,945	0,452 (0,161-1,270)	0,132
CA, mulheres	1,027 (0,528-1,997)	0,937	1,183 (0,572-2,445)	0,651
Índice de massa corporal	1,000 (0,608-1,646)	0,999	1,209 (0,711-2,055)	0,484
Gordura corporal, homens	0,975 (0,381-2,496)	0,958	0,370 (0,125-1,100)	0,074
Gordura corporal, mulheres	1,272 (0,693-2,336)	0,437	1,810 (0,951-3,445)	0,071
Taxa metabólica basal	1,004 (0,601-1,676)	0,988	1,068 (0,614-1,860)	0,815
HbA1c	0,963 (0,555-1,671)	0,893	0,794 (0,433-1,457)	0,457
Resistência à insulina	1,197 (0,737-1,945)	0,468	1,152 (0,687-1,932)	0,592
Insulina	1,204 (0,711-2,040)	0,489	0,739 (0,410-1,332)	0,314
HOMA-IR	1,343 (0,787-2,293)	0,280	1,086 (0,617-1,914)	0,774
Leptina homens	1,190 (0,460-3,078)	0,719	0,340 (0,114-1,011)	0,052
Leptina mulheres	1,026 (0,556-1,894)	0,935	1,442 (0,729-2,853)	0,293
Resistina	1,292 (0,710-2,351)	0,401	0,601 (0,302-1,196)	0,147
Fibrinogênio	1,283 (0,757-2,173)	0,355	0,611 (0,335-1,117)	0,110
PCRus	2,187 (1,237-3,866)	0,007	0,890 (0,497-1,593)	0,695

Nota: O alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. Os valores das variáveis contínuas foram divididos em quartis. O risco foi calculado utilizando o quartil 4 (valores maiores) como valor de corte para as seguintes variáveis: CA homens > 110 cm; CA mulheres > 106 cm; IMC > 35,2 kg/m²; gordura corporal homens > 32,5%; gordura corporal mulheres > 42,4%; TMB > 1803 kcal; HbA1c > 6,0%; Insulina > 16,4 µU/mL; HOMA IR > 4,2; Leptina homens > 15,4 ng/mL; Leptina mulheres > 29,3 ng/mL; Resistina > 39,6 ng/mL; Fibrinogênio > 397 mg/dL; PCRus > 2,9 mg/dL. IC95%: Intervalo de confiança de 95%; OR: Odds ratio; CA: Circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); PCRus: PCR ultrassensível.

Tabela 17. Associação das variantes *MC3R* rs3746619 C>A e rs3827103 G>A com adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão logística.

Variável dependente	<i>MC3R</i> rs3746619 (alelo A)	<i>p</i>	<i>MC3R</i> rs3827103 (alelo A)	<i>P</i>
	OR (IC95%)		OR (IC95%)	
CA, homens	1,972 (0,764-5,089)	0,160	2,182 (0,841-5,662)	0,109
CA, mulheres	1,299 (0,675-2,501)	0,433	1,480 (0,750-2,919)	0,258
Índice de massa corporal	1,012 (0,610-1,679)	0,963	1,247 (0,747-2,082)	0,399
Gordura corporal, homens	1,980 (0,771-5,086)	0,156	2,182 (0,845-5,634)	0,107
Gordura corporal, mulheres	0,855 (0,460-1,591)	0,622	0,985 (0,522-1,858)	0,962
Taxa metabólica basal	1,541 (0,921-2,578)	0,100	1,714 (1,011-2,906)	0,045
HbA1c	1,252 (0,718-2,184)	0,428	1,143 (0,643-2,033)	0,649
Resistência à Insulina	1,107 (0,680-1,800)	0,683	1,205 (0,733-1,983)	0,462
Insulina	1,003 (0,591-1,704)	0,991	1,128 (0,655-1,942)	0,664
HOMA-IR	1,184 (0,699-2,006)	0,530	1,304 (0,761-2,236)	0,334
Leptina homens	2,000 (0,783-5,110)	0,148	2,007 (0,775-5,201)	0,151
Leptina mulheres	0,849 (0,450-1,604)	0,614	1,102 (0,572-2,124)	0,772
Resistina	1,446 (0,793-2,640)	0,229	1,289 (0,683-2,433)	0,434
Fibrinogênio	1,175 (0,701-1,969)	0,541	1,384 (0,809-2,370)	0,235
PCRus	1,508 (0,896-2,538)	0,122	1,637 (0,962-2,785)	0,069

Nota: O alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. Os valores das variáveis contínuas foram divididos em quartis. O risco foi calculado utilizando o quartil 4 (valores maiores) como valor de corte para as seguintes variáveis: CA homens > 110 cm; CA mulheres > 106 cm; IMC > 35,2 kg/m²; gordura corporal homens > 32,5%; gordura corporal mulheres > 42,4%; TMB > 1803 kcal; HbA1c > 6,0%; Insulina > 16,4 µU/mL; HOMA IR > 4,2; Leptina homens > 15,4 ng/mL; Leptina mulheres > 29,3 ng/mL; Resistina > 39,6 ng/mL; Fibrinogênio > 397 mg/dL; PCRus > 2,9 mg/dL. IC95%: Intervalo de confiança de 95%; OR: Odds ratio; CA: Circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); PCRus: PCR ultrasensível.

Tabela 18. Associação da variante *MC4R* rs17782313 T>C com adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão logística.

Variante dependente	MC4R rs17782313 (alelo C)	
	OR (IC95%)	P
CA, homens	1,674 (0,629-4,453)	0,302
CA, mulheres	1,602 (0,842-3,048)	0,151
Índice de massa corporal	1,477 (0,898-2,431)	0,125
Gordura corporal, homens	1,397 (0,517-3,776)	0,510
Gordura corporal, mulheres	1,066 (0,586-1,939)	0,834
Taxa metabólica basal	1,199 (0,709-2,025)	0,498
HbA1c	0,727 (0,404-1,306)	0,727
Resistencia a insulina	0,834 (0,507-1,371)	0,474
Insulina	1,223 (0,721-2,075)	0,455
HOMA-IR	0,858 (0,498-1,480)	0,582
Leptina homens	1,190 (0,442-3,204)	0,730
Leptina mulheres	0,707 (0,376-1,330)	0,282
Resistina	0,644 (0,346-1,200)	0,166
Fibrinogênio	0,890 (0,521-1,522)	0,671
PCRus	1,586 (0,940-2,675)	0,084

Nota: O alelo C (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. Os valores das variáveis contínuas foram divididos em quartis. O risco foi calculado utilizando o quartil 4 (valores maiores) como valor de corte para as seguintes variáveis: CA homens > 110 cm; CA mulheres > 106 cm; IMC > 35,2 kg/m²; gordura corporal homens > 32,5%; gordura corporal mulheres > 42,4%; TMB > 1803 kcal; HbA1c > 6,0%; Insulina > 16,4 µU/mL; HOMA IR > 4,2; Leptina homens > 15,4 ng/mL; Leptina mulheres > 29,3 ng/mL; Resistina > 39,6 ng/mL; Fibrinogênio > 397 mg/dL; PCRus > 2,9 mg/dL. IC95%: Intervalo de confiança de 95%; OR: Odds ratio; CA: Circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica (mmolar/µU/mL); PCRus: PCR ultrassensível.

4.6 Análise de regressão linear

A análise de regressão linear univariada foi utilizada para avaliar a influência das variantes genéticas sobre adiposidade e outras variáveis do estudo. Para esta análise os alelos raros (modelo de herança dominante) foram utilizados como variáveis independentes. Os resultados desta análise são mostrados nas **tabelas 19 a 23**.

Para a variante *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) foi observado que o alelo A (AC+AA) está relacionado com aumento de 19,769 mg/mL de fibrinogênio (p=0,038) e 1,557 mg/dL de PCRus (p=0,035) (**Tabela 19**).

O alelo C (genótipos CT+CC) da variante *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) está relacionado com diminuição de 5,412 ng/mL de leptina em homens ($p=0,028$) e diminuição de 4,605 ng/mL de resistina ($p=0,018$) (**Tabela 20**).

Tabela 19. Influência da variante *IRS1* rs2943634 A>C sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.

Variável dependente	B	EP	P
CA, homens	2,931	3,788	0,441
CA, mulheres	0,086	2,267	0,970
Índice de massa corporal	0,009	0,011	0,407
Gordura corporal			
Homens	1,643	1,244	0,190
Mulheres	1,045	0,912	0,253
Taxa metabólica basal	0,005	0,011	0,648
HbA1c	0,027	0,142	0,849
Insulina	-0,060	1,687	0,972
HOMA-IR	-0,016	0,046	0,729
Leptina, homens	1,201	2,436	0,623
Leptina, mulheres	1,063	1,846	0,565
Resistina	-0,578	1,783	0,746
Fibrinogênio	19,769	9,489	0,038
PAI-1	5,589	7,979	0,484
PCRus	1,557	0,735	0,035
IL-1 β	0,212	0,225	0,346
IL-6	0,265	0,466	0,570
TNF α	0,905	1,135	0,426

Nota: O alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. B: coeficiente de regressão; EP: erro padrão; CA: circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1 β : Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 20. Influência da variante *IRS2* rs1865434 C>T sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.

Variável dependente	B	EP	P
CA, homens	-3,926	3,843	0,310
CA, mulheres	1,475	2,640	0,577
Índice de massa corporal	0,012	0,948	0,990
Gordura corporal			
Homens	-0,076	1,280	0,953
Mulheres	0,956	1,043	0,360
Taxa metabólica basal	0,015	0,012	0,238
HbA1c	0,065	0,153	0,672
Insulina	-0,344	1,861	0,853
HOMA-IR	0,007	0,051	0,893
Leptina, homens	-5,412	2,422	0,028
Leptina, mulheres	2,069	2,130	0,332
Resistina	-4,605	1,925	0,018
Fibrinogênio	19,769	9,489	0,038
PAI-1	-8,668	8,682	0,319
PCRus	0,876	0,837	0,296
IL-1 β	-0,361	0,247	0,145
IL-6	-0,127	0,544	0,816
TNF α	-0,984	1,256	0,434

Nota: O alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. B: coeficiente de regressão; EP: erro padrão; CA: circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1 β : Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa.

Para a variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) foi observado que o alelo A (AC+AA) está relacionado com aumento de 0,289% de HbA1c (p=0,045) (**Tabela 21**), mas a variante *MC3R* rs3827103 (.130G>A) não influenciou nas variáveis estudadas (**Tabela 22**).

Para a variante *MC4R* rs17782313 foi observado que o alelo C (CC+TC) está relacionado com diminuição de 0,295% de HbA1c (p=0,041) (**Tabela 23**).

Tabela 21. Influência da variante *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.

Variável dependente	B	EP	P
CA, homens	6,981	3,806	0,070
CA, mulheres	-0,632	2,335	0,787
Índice de massa corporal	0,707	0,881	0,422
Gordura corporal			
Homens	1,381	1,273	0,281
Mulheres	0,105	0,930	0,910
Taxa metabólica basal	0,015	0,011	0,196
HbA1c	0,289	0,143	0,045
Insulina	0,246	1,709	0,886
HOMA-IR	0,048	0,046	0,304
Leptina, homens	3,895	2,441	0,114
Leptina, mulheres	0,041	1,898	0,983
Resistina	2,803	1,824	0,126
Fibrinogênio	12,446	9,742	0,202
PAI-1	1,183	8,028	0,883
PCRus	0,759	0,776	0,329
IL-1 β	0,070	0,226	0,757
IL-6	0,380	0,501	0,449
TNF α	0,634	1,150	0,582

Nota: O alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. B: coeficiente de regressão; EP: erro padrão; CA: circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1 β : Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 22. Influência da variante *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.

Variável dependente	B	EP	P
CA, homens	7,420	3,839	0,056
CA, mulheres	1,326	2,506	0,597
Índice de massa corporal	1,414	0,929	0,129
Gordura corporal			
Homens	1,608	1,294	0,217
Mulheres	0,365	1,006	0,717
Taxa metabólica basal	0,021	0,012	0,080
HbA1c	0,208	0,151	0,171
Insulina	0,813	1,841	0,659
HOMA-IR	0,064	0,050	0,202
Leptina, homens	3,818	2,436	0,120
Leptina, mulheres	1,484	2,030	0,466
Resistina	2,568	1,996	0,199
Fibrinogênio	14,354	10,418	0,169
PAI-1	2,331	8,630	0,787
PCRus	1,461	0,828	0,078
IL-1 β	0,277	0,232	0,233
IL-6	0,560	0,511	0,273
TNF α	0,366	1,236	0,767

Nota: Para a análise o alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. B: coeficiente de regressão; EP: erro padrão; CA: circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1 β : Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 23. Influência da variante *MC4R* rs17782313 T>C sobre adiposidade e outras variáveis: Análise de regressão linear.

Variável dependente	B	EP	P
CA, homens	0,017	0,107	0,875
CA, mulheres	0,001	0,062	0,991
Índice de massa corporal	1,098	0,878	0,212
Gordura corporal, homens	0,520	1,373	0,706
Gordura corporal, mulheres	0,503	0,914	0,583
Taxa metabólica basal	0,015	0,012	0,195
HbA1c	-0,295	0,144	0,041
Insulina	-0,479	1,722	0,704
HOMA-IR	-0,018	0,047	0,364
Leptina homens	3,667	2,602	0,162
Leptina mulheres	-2,761	1,842	0,135
Resistina	-2,932	1,803	0,105
Fibrinogênio	8,529	9,786	0,384
PAI-1	-1,964	7,997	0,806
PCRus	1,127	0,784	0,151
IL-1 β	0,179	0,255	0,426
IL-6	-0,316	0,500	0,528
TNF α	-1,296	1,144	0,258

Nota: Para a análise o alelo raro (modelo de herança dominante) foi utilizado como variável independente. B: coeficiente de regressão; EP: erro padrão; CA: circunferência abdominal; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostase – resistência insulínica; PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; IL-1 β : Interleucina 1beta; IL-6: Interleucina 6; PCRus: PCR ultrasensível; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa.

5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, a obesidade não foi associada com idade, etnia e gênero dos indivíduos estudados. Diferentemente, em outros estudos, foi relatado que a obesidade é mais frequente em mulheres e pessoas de meia idade (ARROYO-JOHNSON; MINCEY, 2016; GORDON et al., 2018; KANTER; CABALLERO, 2012; WANG et al., 2017).

Como esperado, os grupos sobrepeso e obeso apresentaram perfil antropométrico alterado com maiores valores de IMC, CA, RCQ e maior adiposidade (taxa de gordura corporal e TMB). No grupo obeso, também foi encontrada maior prevalência de hipertensão, DT2, dislipidemia e resistência à insulina. A associação da obesidade com essas alterações metabólicas e comorbidades, que são fatores de risco para DCV, foi relatada em vários estudos em diferentes populações (ALGOBLAN; ALALFI; KHAN, 2014; ENGIN, 2017; HAN; LEAN, 2016; LUO; LIU, 2016; MONTAZERIFAR et al., 2016; SAVASTANO et al., 2009).

Os parâmetros CA e RCQ têm sido utilizados para avaliar o risco de DCV em diferentes populações. Em uma amostra da população chinesa, a combinação dos parâmetros IMC e CA aumentou o risco de DCV quando comparada com estes indicadores de obesidade isolados (SUNG et al., 2008). Em um estudo de coorte, na população australiana que acompanhou por 15 anos 4175 homens sem histórico de angina, diabetes ou acidentes vascular cerebral, foi observado que CA e RCQ são indicadores mais fortemente associados com óbitos decorrentes de DCV, quando comparado somente com o IMC (DHALIWAL et al., 2014). A RCQ aumentada também foi associada com resistência à insulina em mulheres eutróficas não diabéticas de uma amostra da população peruana (BENITES-ZAPATA et al., 2019).

O perfil metabólico também foi mais alterado no grupo de obesos, particularmente no controle glicêmico incluindo glicemia, HbA1c, insulinemia e HOMA-IR. Essas alterações são compatíveis com o maior percentual de indivíduos com resistência à insulina no grupo obeso. A falha no controle glicêmico tem sido associada com DT2 e suas complicações, e também maior risco de DCV (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018).

Um estudo de revisão descreveu que mulheres obesas têm risco 28 vezes maior de desenvolver DT2 que mulheres não obesas e que o diabetes pode aumentar em duas vezes o risco de DCV (BARNES, 2011). Em outro trabalho de revisão, foi relatado que o aumento de IMC está fortemente relacionado com resistência à insulina e diabetes. Isso porque, na obesidade, há aumento AGL circulantes e outras moléculas envolvidas na resistência à insulina e no comprometimento de células β , sendo que a principal são os AGL (ALGOBLAN; ALALFI; KHAN, 2014).

Em outra revisão, foi relatado que mais de 90% dos indivíduos com sobrepeso e obesidade apresentam DT2 e que a adiposidade piora a resistência à insulina. Também foi descrito que a perda de peso (5 a 10%) resulta na redução de HbA1c (0,6 a 1,0%) e glicemia de jejum (2 a 5%) (BRAMANTE; LEE; GUDZUNE, 2017).

Em um estudo na população brasileira, também observamos associação da obesidade com DT2, hipertensão e dislipidemia, assim como alterações metabólicas que resultam em resistência à insulina e leptina e em perfil aterogênico e pró-inflamatório (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Neste trabalho, o grupo obeso apresentou alterações do perfil lipídico associadas com obesidade, tais como hipertrigliceridemia acompanhada de menores concentrações de HDL colesterol e apo AI. Vários estudos demonstraram relação entre obesidade e dislipidemia (REUTER et al., 2016; RODACKI, 2015; VEKIC et al., 2019), nos quais grande parcela de indivíduos obesos (60-70%) apresentou principalmente aumento de triglicérides e redução de HDL colesterol, alterações estas associadas com prejuízo do transporte reverso do colesterol (FEINGOLD; GRUNFELD, 2018).

Efeitos da obesidade e a distribuição de gordura corporal sobre o perfil lipídico também foi observado em um estudo com índios americanos não diabéticos, sendo que a principal alteração foi o HDL colesterol diminuído, em homens. Além disso, em mulheres, a alteração do perfil lipídico associada principalmente com adiposidade central (HU et al., 2000).

Em estudo com mulheres brasileiras idosas, foi observado que a obesidade geral e central estavam diretamente relacionadas às concentrações de triglicérides e inversamente relacionadas às concentrações de HDL colesterol

(KRAUSE et al., 2007). Em um estudo com mulheres sul-africanas também foi demonstrado que a obesidade e a etnia afetam a funcionalidade e a distribuição das subclasses de HDL (WOUDBERG et al., 2016).

Neste estudo, indivíduos dos grupos sobrepeso e obeso apresentaram maiores concentrações séricas de leptina, independente do gênero, e menores de LEPRs, no grupo obeso.

Em estudos que analisaram concentrações de leptina em obesos e não obesos de diferentes populações, foi relatada correlação positiva entre o IMC e a leptina sérica (AGUILAR et al., 2013; CONSIDINE, 2005; DEROSA et al., 2013; LEON-CABRERA et al., 2013; MARTINS; FALEIRO; FONSECA, 2012). Isso possivelmente é decorrente do aumento da síntese de leptina à medida que os adipócitos hipertrofia como resultado do acúmulo de triglicerídeos (CARTER et al., 2013; WASIM, 2015).

A hiperleptinemia e a diminuição de LEPRs podem indicar estado de resistência a leptina, na qual ocorre a diminuição da sensibilidade tecidual à leptina que resulta no desenvolvimento de obesidade e alterações metabólicas, como resistência à insulina e dislipidemia (GRUZDEVA et al., 2019; LEON-CABRERA et al., 2013). A resistência a leptina pode ser causada por variantes nos genes *LEP* e *LEPR*, assim como em genes que codificam proteínas envolvidas na via de sinalização da leptina-melanocortina e homeostase energética (GRUZDEVA et al., 2019).

Neste trabalho, também observamos que os indivíduos com sobrepeso e obeso apresentaram maiores concentrações de resistina. Em um estudo caso controle com crianças brasileiras foi demonstrada correlação positiva entre as concentrações de resistina e o IMC (MANTOVANI et al., 2016).

A resistina é secretada primordialmente por macrófagos residentes no tecido adiposo e está aumentada nos processos inflamatórios, contribuindo para o desenvolvimento da obesidade, resistência à insulina e intolerância à glicose (LANDECHO et al., 2019). Dessa forma o aumento de resistina circulante apoia a hipótese de um estado inflamatório de baixo grau como observado na obesidade.

Em estudo com ratos, foi observado que alterações nas concentrações de adipocinas resultam em distúrbios metabólicos e cardiovasculares graves,

podendo estar relacionado ao processo inflamatório decorrente do aumento da adiposidade (OUCHI et al., 2011).

Neste trabalho, as concentrações séricas de fibrinogênio, PAI-1, PCRus, IL-6, IL-1 β e TNF α foram maiores no grupo de obesos, o que evidencia o estado inflamatório mais alterado destes indivíduos.

Leon-Cabrera e colaboradores também relataram que, em indivíduos obesos, a hiperletemia está significativamente associada com concentrações aumentadas de TNF α e IL-1 β , e diminuídas de IL-10, uma citocina anti-inflamatória (LEON-CABRERA et al., 2013).

Neste estudo, a distribuição dos genótipos das variantes *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C), *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T), *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A) e *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C), seguiu o equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que é sugestivo de seleção adequada de indivíduos para o estudo. Também observamos que as frequências alélicas dessas variantes são similares àquelas observadas na população geral de acordo com dados do projeto 1000 genomas.

Nós observamos a associação da variante *missense MC3R* rs3827103 (c.130G>A, Val44Ile; antiga V81I), mas não da *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A, antiga Thr6Lys) com sobrepeso e maior probabilidade de TMB aumentada.

No estudo de Zegers e colaboradores também foi relatada falta de associação da *MC3R* rs3746619 com sobrepeso ou obesidade, em adultos belgas de origem Caucasiana. Entretanto, ao analisarem os parâmetros quantitativos, observaram influência desta variante no peso corporal e tendência de associação com o IMC unicamente no grupo obeso. Foi sugerido o envolvimento dessa variante na regulação do peso corporal, em obesos (ZEGERS et al., 2010).

Em estudo posterior, Santos e colaboradores relataram que as variantes *MC3R* rs3827103 (c.130G>A, Val44Ile; antiga V81I) e *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A, antiga Thr6Lys) não tiveram papel importante na perda de massa corporal em 771 adultos obesos europeus, submetidos a uma dieta de restrição calórica por 10 semanas com dois tipos de dietas hipoenergéticas (SANTOS et al., 2011).

No trabalho de revisão de Demidowich e colaboradores, foi relatado que a combinação das variantes *MC3R* rs3827103 (c.130G>A, Val44Ile; antiga V81I) e rs3746619 (c.-95C>A, antiga Thr6Lys), na forma homozigótica, foi associada com maior adiposidade, hiperleptinemia e homeostase energética alterada (DEMIDOWICH; JUN; YANOVSKI, 2017). Esses autores descreveram que estudos *in vitro* com células HEK293 que apresentavam essas variantes, a expressão da proteína *MC3R* estava diminuída, o que resultou em redução da geração de cAMP em resposta a interação do receptor com o ligante. Assim, a menor expressão de *MC3R* em portadores dessas variantes pode ser fator predisponente para desregulação do metabolismo energético. Em modelo de camundongo *knock-in*, foi observado que essas variantes aumentam a eficiência de alimentação e a capacidade de adipócitos derivados de células-tronco de tecido ósseo ou adiposo de armazenar triglicérides. Esses estudos evidenciaram que para alteração da função do *MC3R* as duas variantes precisam estar presentes (DEMIDOWICH; JUN; YANOVSKI, 2017).

Em estudo prévio de nosso grupo, foi descrita falta de associação direta das variantes *MC3R* rs3746619 e rs3827103 com obesidade ou variáveis antropométricas, em uma amostra da população chilena adulta (MANRIQUEZ et al., 2018).

Neste trabalho, foi observado que o alelo A (genótipos AA+AC) do *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) está associado com maior valor de HbA1c. Além disso, portadores do alelo A (genótipos AA+AG) do *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) tiveram menor concentração de apo AI. Esses resultados são sugestivos de potencial efeito dessas variantes sobre o perfil glicêmico e o perfil lipídico.

Em um estudo de coorte com 237 indivíduos adultos jovens afro-americanos, foi demonstrado que o haplótipo *MC3R* C17A + G241A [c.-95C>A, (antiga Thr6Lys) + c.130G>A (antiga V81I)] em homozigose foi associado com maior adiposidade (IMC, gordura corporal), tendência a maior insulina, mas não foi associado com alteração do perfil lipídico (DEMIDOWICH et al., 2019). Foi também observada associação do haplótipo com PCRus maior, o que foi sugerido refletir um estado inflamatório sistêmico relacionado com a maior adiposidade. Curiosamente os autores observaram que esse haplótipo é mais frequente em afro-americanos que em outras populações. Esse resultado é

sugestivo de que as associações encontradas sejam dependentes da combinação de genótipos e grupo étnico estudado. Dessa forma, mais estudos são necessários para avaliar o efeito de haplótipos de MC3R em várias populações.

Neste trabalho, não foi encontrada associação do polimorfismo *MC4R* rs17782313 T>C com obesidade. De forma similar, falta de associação dessa variante com obesidade foi observada em estudos de outras populações de origem caucasiana (VEGA et al., 2016); (PROENÇA et al., 2019).

Por outro lado, a variante *MC4R* rs17782313 T>C foi associada com IMC obesidade em várias populações. Em adultos, essa variante foi associada com IMC aumentado e consumo alimentar excessivo, que foi sugerido contribuir para o aumento da adiposidade (YILMAZ et al., 2015). Essa variante também foi associada com obesidade, em mulheres com síndrome do ovário policístico (BATARFI et al., 2019) e em mulheres jovens de origem árabe (EL HAJJ CHEHADEH et al., 2020). Em uma grande coorte de chineses, cinco variantes de *MC4R*, incluindo a rs17782313 T>C, foram associadas com distúrbios metabólicos associados com obesidade (GAO et al., 2019). Em um estudo de meta-análise recente que utilizou vários modelos de herança genética (contraste alélico, dominante, recessivo e codominante) também foi encontrada associação da variante *MC4R* rs1782313 T>C com obesidade (YU et al., 2020).

É importante ressaltar que, a maioria dos estudos que relataram associação da variante *MC4R* rs17782313 T>C com obesidade, utilizou casuística superior à do nosso estudo. É possível que esse tenha sido um fator limitante para identificar associação dessa variante com obesidade e/ou adiposidade, na nossa população.

Neste estudo, observamos a associação do alelo C da variante *MC4R* rs17782313 T>C com redução de 0,289% nos valores de HbA1c, o que é sugestivo de um efeito protetor desta variante relacionado ao perfil glicêmico. Por outro lado, em um estudo com uma grande coorte de japoneses adultos, o alelo C foi associado com HbA1c aumentada, independentemente da idade, sexo, IMC, LDL colesterol e HOMA-IR (MUTOMBO et al., 2014). Em indivíduos obesos iranianos, também foi relatada associação dessa variante com maior concentração de insulina, independente do padrão alimentar (MOHAMMADI et

al., 2020). Essa variante também foi relatada influenciar o perfil lipídico e outros fatores de risco cardiometabólicos em indivíduos adultos chilenos (MANRIQUEZ et al., 2018) e iranianos (KHODARAHMI et al., 2020).

Também observamos, neste trabalho, a relação do genótipo CC da variante *MC4R* rs17782313 com maiores concentrações de fibrinogênio e PCRus. Em um estudo que utilizou abordagem genética bidirecional, foi observado que a maior adiposidade conferida pela variante *MC4R* rs17782313 (T>C), genótipo CC, resultou em concentrações elevadas de PCRus, na população europeia (WELSH et al., 2010). Esses achados são sugestivos de associação da variante *MC4R* rs17782313 com o processo inflamatório relacionado com obesidade.

A variante rs17782313 é intergênica e localizada a 150-188Kb a jusante do *MC4R*. É possível que essa variante esteja localizada em uma região regulatória que pode modular a expressão do *MC4R*. Em estudo de meta-análise, Tang e colaboradores utilizaram estratégias de *expression quantitative trait loci* (eQTL) e *methylation quantitative trait loci* (meQTL) para explorar efeitos epigenéticos da variante rs17782313 e sua relação com obesidade infantil. Os autores relataram associação do genótipo TT com hipermetilação da região promotora do *MC4R* e expressão diminuída de *MC4R* (TANG et al., 2017).

A variante *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) é intergênica e está localizada 500pb a jusante da região *LOC646736* (LEE; CHEONG; SHIN, 2017). Ela está em desequilíbrio de ligação com as variantes intergênicas rs2943650, rs2943641 e rs7578326 que foram associadas com doença arterial coronariana, resistência à insulina e DT2, segundo um estudo de associação de genoma total (GWAS) sobre variantes relacionadas com IMC e que influenciam estado glicêmico e resistência à insulina (MANNING et al., 2012).

Em nosso estudo, a variante *IRS1* rs2943634 não foi associada com obesidade ou alterações no perfil antropométrico ou metabólico. Diferentemente foi demonstrada associação do *IRS1* rs2943634 com síndrome metabólica e concentrações alteradas de HbA1c, triglicérides e HDL colesterol, em duas coortes da população Holandesa, (POVEL et al., 2012). Igualmente, em um estudo populacional com 12.747 adultos hispânicos/latinos dos EUA, foi relatada associação das variantes em *IRS1* (rs2943650, rs2943634, rs2943641 e

rs2972146) com adiposidade aumentada e perfil metabólico favorável, incluindo menores valores de insulina em jejum, HOMA-IR, HbA1c e TG e maior concentração aumentada de HDL colesterol (QI et al., 2016). Lee e colaboradores também demonstraram a associação do *IRS1* rs2943634 com IMC aumentado, em adultos coreanos (LEE; CHEONG; SHIN, 2017).

Curiosamente, nós encontramos associação da variante *IRS1* rs2943634 com concentrações maiores de fibrinogênio e PCRus. Em um estudo que avaliou vários genes, em em duas coortes holandesas, não foi observada relação dessa variante mas não com PCRus alterado (POVEL et al., 2012). Dessa forma, nosso estudo contribui com dados relacionados a variante intergênica rs2943634 e o perfil inflamatório, na nossa população.

No presente estudo, a variante *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T), não foi relacionada com obesidade ou alterações nos parâmetros antropométricos e alterações metabólicas. Curiosamente, encontramos associação do alelo C do *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) com menor concentração de leptina, em homens, e da resistina independente do gênero. Este resultado é sugestivo de que esta variante tem um papel protetor para obesidade, entretanto, esta hipótese não foi confirmada pela análise de regressão logística.

A variante *IRS2* rs1865434 está localizada na região 3'UTR do gene (DBSNP, 2019) e pode interferir na interação mRNA-microRNAs, anulando um sítio existente ou criando um novo sítio para ligação de outros miRNAs. Dessa forma, alterando a regulação pós-transcricional do gene, seja na inibição da tradução ou na degradação do RNAm (RIFFO-CAMPOS; RIQUELME; BREBI-MIEVILLE, 2016).

Até o momento três estudos analisaram a variante *IRS2* rs1865434. O primeiro reportou associação dessa variante com síndrome do ovário policístico, em uma coorte de mulheres Americanas caucasianas (n=275) que não foi replicada em uma coorte maior (n=526) (GOODARZI et al., 2011). O segundo resequenciou o gene *IRS2*, incluindo as 3'UTR e 5'UTR, mas não encontrou associação da variante *IRS2* rs1865434 com parâmetros antropométricos, metabólicos, adipocinas e inflamatórios, em uma coorte infantil européia com predisposição para obesidade e DT2 (BUTTE et al., 2011). O terceiro estudo explorou as variantes *IRS2* rs2289046, rs1865434 e rs4771646 e reportou

associação da variante rs2289046 com resistência à insulina e concentrações alteradas de AGL no plasma de indivíduos com síndrome metabólica da coorte LIPGENE (PEREZ-MARTINEZ et al., 2012).

Dessa forma, mais estudos são necessários para confirmar a influência da variante *IRS2* rs1865434 sobre a adiposidade em adultos e/ou em brasileiros.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo é possível concluir que:

- As frequências das variantes *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C), *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T), *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A), e *MC4R* rs17782313 (g.57851097 T>C), em adultos brasileiros, são similares às da população mundial;
- As variantes *MC3R* rs3827103 (c.130G>A) e rs3746619 (c.-95C>A) estão associadas com obesidade e perfil metabólico desfavorável, em adultos brasileiros;
- As variantes *IRS1* rs2943634 (g.226203364 A>C) *MC4R* rs17782313 T>C e estão associadas com concentrações aumentadas de fibrinogênio e PCR ultrasensível;
- A variante *IRS2* rs1865434 (g.109756261 C>T) está associada com concentrações diminuídas de leptina e resistina;
- As variantes *IRS1* rs2943634 A>C, *IRS2* rs1865434 C>T, *MC3R* rs3746619 (c.-95C>A) e rs3827103 (c.130G>A), e *MC4R* rs17782313 T>C, parecem influenciar os perfis metabólico, inflamatório e de adipocinas, podendo ser biomarcadores úteis para avaliar o risco de alterações metabólicas e inflamatórias relacionadas com obesidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADI, A. et al. Penetrance of Polygenic Obesity Susceptibility Loci across the Body Mass Index Distribution. **American journal of human genetics**, v. 101, n. 6, p. 925–938, 7 dez. 2017.
- ABESO. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016. **VI Diretrizes Brasileiras de Obesidade**, p. 7–186, 2016.
- ADAMSKA-PATRUNO, E. et al. The MC4R genetic variants are associated with lower visceral fat accumulation and higher postprandial relative increase in carbohydrate utilization in humans. **European journal of nutrition**, v. 58, n. 7, p. 2929–2941, out. 2019.
- ADELA HRUBY, PHD, M.; FRANK B. HU, MD, PHD, M. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. **Pharmacoeconomics**, v. 33, n. 7, p. 673–689, 2015.
- AGUILAR, M. J. et al. Insulin resistance and inflammation markers: Correlations in obese adolescents. **Journal of Clinical Nursing**, v. 22, n. 13–14, p. 2002–2010, 2013.
- ALGOBLAN, A.; ALALFI, M.; KHAN, M. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 7, p. 587, dez. 2014.
- ALMEIDA, S. M. et al. Association between LEPR, FTO, MC4R, and PPARG-2 polymorphisms with obesity traits and metabolic phenotypes in school-aged children. **Endocrine**, v. 60, n. 3, p. 466–478, 2018.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes-2018. **Diabetes care**, v. 41, n. 9, p. 2045–2047, 2018.
- AMITANI, M. et al. The role of leptin in the control of insulin-glucose axis. **Frontiers in Neuroscience**, v. 7, n. 7 APR, p. 1–12, 2013.
- ARAKI, E. et al. Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. **Nature**, v. 372, n. 6502, p. 186–190, 1994.
- ARROYO-JOHNSON, C.; MINCEY, K. D. Obesity Epidemiology Worldwide. **Gastroenterology clinics of North America**, v. 45, n. 4, p. 571–579, dez. 2016.
- ATTAOUA, R. et al. Association of the FTO gene with obesity and the metabolic syndrome is independent of the IRS-2 gene in the female population of

- Southern France. v. 35, p. 476–483, 2009.
- BARBALHO, S. M. et al. Síndrome metabólica, aterosclerose e inflamação: tríade indissociável? **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 14, n. 4, p. 319–327, 1 dez. 2015.
- BARNES, A. S. The epidemic of obesity and diabetes. **Cardiovascular disease in women**, v. 38, n. 2, p. 142–144, 2011.
- BASTARD, J. P. et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network**, v. 17, n. 1, p. 4–12, 2006.
- BATARFI, A. A. et al. MC4R variants rs12970134 and rs17782313 are associated with obese polycystic ovary syndrome patients in the Western region of Saudi Arabia. p. 1–7, 2019.
- BELFORT-DEAGUIAR, R.; SEO, D. Food Cues and Obesity: Overpowering Hormones and Energy Balance Regulation. **Current obesity reports**, v. 7, n. 2, p. 122–129, 2018.
- BENITES-ZAPATA, V. A. et al. High waist-to-hip ratio levels are associated with insulin resistance markers in normal-weight women. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 1, p. 636–642, 2019.
- BODHINI, D. et al. The G1057D polymorphism of IRS-2 gene and its relationship with obesity in conferring susceptibility to type 2 diabetes in Asian Indians. **International journal of obesity (2005)**, v. 31, n. 1, p. 97–102, jan. 2007.
- BOUCHER, J.; KLEINRIDDERS, A.; KAHN, C. R. Insulin Receptor Signaling in Normal. **Cold Spring Harb Perspect Biol** 2014, v. 6, p. a009191, 2014.
- BRAMANTE, C. T.; LEE, C. J.; GUDZUNE, K. A. Treatment of Obesity in Patients With Diabetes. **Diabetes Spectrum**, v. 30, n. 4, p. 237–243, 2017.
- BRÜNING, J. C. et al. Role of Brain Insulin Receptor in Control of Body Weight and Reproduction. **Science**, v. 289, n. 5487, p. 2122 LP – 2125, 22 set. 2000.
- BUTTE, N. F. et al. Resequencing of IRS2 reveals rare variants for obesity but not fasting glucose homeostasis in Hispanic children. **Physiological Genomics**, v. 43, n. 18, p. 1029–1037, 2011.
- CARTER, S. et al. Role of leptin resistance in the development of obesity in older patients. **Clinical interventions in aging**, v. 8, p. 829–844, 2013.
- CASTRO, A. M.; MACEDO-DE LA CONCHA, L. E.; PANTOJA-MELÉNDEZ, C.

- A. Low-grade inflammation and its relation to obesity and chronic degenerative diseases. **Revista Médica del Hospital General de México**, v. 80, n. 2, p. 101–105, abr. 2017.
- CASTRO, A. V. B. et al. Obesidade, Resistência à insulina e comorbidades - mecanismos de associação. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 58, n. 6, p. 600–609, 2014.
- CHEN, A. S. et al. Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass. **Nature Genetics**, v. 26, n. 1, p. 97–102, 2000.
- COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. **Archives of Medical Science**, v. 9, n. 2, p. 191–200, 2013.
- CONSIDINE, R. Human Leptin: An Adipocyte Hormone with Weight-Regulatory and Endocrine Functions. **Seminars in vascular medicine**, v. 5, p. 15–24, 1 mar. 2005.
- COOKE, G. S. et al. Mapping of a novel susceptibility locus suggests a role for MC3R and CTSZ in human tuberculosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 178, n. 2, p. 203–207, 2008.
- DBSNP. **The Single Nucleotide Polymorphism Database**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3746619#publications>>. Acesso em: 19 nov. 2019.
- DE-MATEO-SILLERAS, B. et al. Bioelectrical impedance vector analysis in obese and overweight children. **PLoS ONE**, v. 14, n. 1, p. 1–18, 2019.
- DE OLIVEIRA, R. et al. ADIPOQ and IL6 variants are associated with a pro-inflammatory status in obesities with cardiometabolic dysfunction. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2015.
- DE SIMONE, G. et al. Obesity and hypertensive heart disease: Focus on body composition and sex differences. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2016.
- DEMIDOWICH, A. P. et al. Associations of the melanocortin 3 receptor C17A + G241A haplotype with body composition and inflammation in African-American adults. **Annals of Human Genetics**, v. 83, n. 5, p. 355–360, 2 set. 2019.
- DEMIDOWICH, A. P.; JUN, J. Y.; YANOVSKI, J. A. Polymorphisms and

- mutations in the melanocortin-3 receptor and their relation to human obesity. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 10, p. 2468–2476, 2017.
- DEROSA, G. et al. Adipocytokine levels in obese and non-obese subjects: An observational study. **Inflammation**, v. 36, n. 4, p. 914–920, 2013.
- DHALIWAL, S. S. et al. Obesity as assessed by body adiposity index and multivariable cardiovascular disease risk. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. 2–7, 2014.
- EHTESHAM, S.; QASIM, A.; MEYRE, D. Loss-of-function mutations in the melanocortin-3 receptor gene confer risk for human obesity: A systematic review and meta-analysis. **Obesity Reviews**, v. 20, n. 8, p. 1085–1092, 2019.
- EICKEMBERG, M. et al. Bioelectric impedance analysis and its use for nutritional assessments. **Revista de Nutricao**, v. 24, n. 6, p. 873–882, 2011.
- EL HAJJ CHEHADEH, S. et al. Implication of genetic variants in overweight and obesity susceptibility among the young Arab population of the United Arab Emirates. **Gene**, v. 739, p. 144509, 2020.
- ENES, C. C.; SLATER, B. Obesidade na adolescência e seus principais fatores determinantes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 13, n. 1, p. 163–171, 2010.
- ENGIN, A. The Definition and Prevalence of Obesity Metaboli Syndrome. **Obesity and Lipotoxicity**, v. 960, 2017.
- FALUDI, A. A. et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 1, p. 76, 2017.
- FAROOQI, I. S. et al. Clinical Spectrum of Obesity and Mutations in the Melanocortin 4 Receptor Gene. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 12, p. 1085–1095, 20 mar. 2003.
- FEINGOLD, K. R.; GRUNFELD, C. Obesity and Dyslipidemia. p. Updated 2018 Apr 10, 2018.
- FINUCANE, M. M. et al. National, regional, and global trends in body mass index since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. **Lancet**, v. 377, n. 9765, p. 557–567, 2015.
- FRANCISQUETI, F. V.; NASCIMENTO, A. F. DO; CORREA, C. R. Obesidade,

- inflamação e complicações metabólicas. **Nutrire**, v. 40, n. 1, p. 81–89, 2015.
- FU, J. et al. The role of established East Asian obesity-related loci on pediatric leptin levels highlights a neuronal influence on body weight regulation in Chinese children and adolescents: the BCAMS study. **Oncotarget**, v. 8, n. 55, p. 93593–93607, 24 ago. 2017.
- GAO, L. et al. MC4R Single Nucleotide Polymorphisms Were Associated with Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity in Chinese Northern Han Populations. 2019.
- GARCÍA-CHAPA, E. G. et al. Genetic Epidemiology of Type 2 Diabetes in Mexican Mestizos. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.
- GEORGEL, P.; N.G.S; BEUTLER, B. **Phenotypic Mutation ‘Business class’**. Disponível em: </mutagenetix.utsouthwestern.edu>. Acesso em: 6 jan. 2020.
- GHOSH, S.; BOUCHARD, C. Convergence between biological, behavioural and genetic determinants of obesity. **Nature Reviews Genetics**, v. 18, n. 12, p. 731–748, 2017.
- GIRARDET, C.; BUTLER, A. A. Neural melanocortin receptors in obesity and related metabolic disorders. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1842, n. 3, p. 482–494, mar. 2014.
- GONZÁLEZ-MUNIESA, P. et al. Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17034, 15 dez. 2017.
- GOODARZI, M. O. et al. Replication of association of a novel insulin receptor gene polymorphism with polycystic ovary syndrome. **Fertility and sterility**, v. 95, n. 5, p. 1711–1736, abr. 2011.
- GORDON, H. L. et al. Obesity and gender as status beliefs. **Social Science Research**, v. 71, n. November, p. 11–18, 2018.
- GRUZDEVA, O. et al. Leptin resistance: Underlying mechanisms and diagnosis. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 12, p. 191–198, 2019.
- GUO, C. A.; GUO, S. Insulin receptor substrate signaling controls cardiac energy metabolism and heart failure. **Journal of Endocrinology**, v. 233, n. 3, p. R131–R143, 2017.
- GUO, S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms. **The Journal of endocrinology**, v.

- 220, n. 2, p. T1–T23, 8 jan. 2014.
- HAN, T. S.; LEAN, M. E. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **JRSM cardiovascular disease**, v. 5, p. 2048004016633371–2048004016633371, 25 fev. 2016.
- HINNEY, A.; VOGEL, C. I. G.; HEBEBRAND, J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. **European child & adolescent psychiatry**, v. 19, n. 3, p. 297–310, mar. 2010.
- HINUY, H. M. et al. LEP 3'HVR is associated with obesity and leptin levels in Brazilian individuals. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 89, n. 4, p. 374–380, 2006.
- HINUY, H. M. et al. Relationship between variants of the leptin gene and obesity and metabolic biomarkers in Brazilian individuals. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 54, n. 3, p. 282–288, 2010.
- HINUY, H. M. et al. Relationship of short tandem repeats flanking leptin-melanocortin pathway genes with anthropometric profile and leptinemia in Brazilian individuals. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, n. 1, p. 47–53, fev. 2012.
- HU, D. et al. Effects of obesity and body fat distribution on lipids and lipoproteins in nondiabetic American Indians: The strong heart study. **Obesity Research**, v. 8, n. 6, p. 411–421, 2000.
- HUI, H. X.; FENG, T. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **Adipose Tissue**, p. 229–237, 30 maio 2018.
- HUSSAIN, A. et al. Type 2 Diabetes and obesity: A review. **Journal of Diabetology**, v. 2, n. June, p. 1, 2010.
- HUVENNE, H. et al. Rare Genetic Forms of Obesity: Clinical Approach and Current Treatments in 2016. **Obesity facts**, v. 9, n. 3, p. 158–173, 2016.
- IBRAHIM, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: Structural and functional differences. **Obesity Reviews**, v. 11, n. 1, p. 11–18, 2010.
- INSTITUTE, N. C. **Obesity and Cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/obesity/obesity-fact-sheet#what-is-known-about-the-relationship-between-obesity-and-cancer->>. Acesso em: 1 out. 2019.
- JAVED, A. et al. Diagnostic performance of body mass index to identify obesity

- as defined by body adiposity in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. **Pediatric Obesity**, v. 10, n. 3, p. 234–244, 2015.
- JIANG, F. et al. Association of the G1057D polymorphism in insulin receptor substrate 2 gene with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 29, n. 5, p. 731–736, 2015.
- KADOWAKI, T. et al. SnapShot: physiology of insulin signaling. **Cell**, v. 148, n. 4, p. 834–834.e1, 2012.
- KANTER, R.; CABALLERO, B. Global Gender Disparities in Obesity: A Review. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 3, p. 491–498, 13 jul. 2012.
- KASIM, N. B. et al. Genetic polymorphisms associated with overweight and obesity in uncontrolled Type 2 diabetes mellitus. **Biomarkers in Medicine**, v. 10, n. 4, p. 403–415, 2016.
- KHALIL, S. F.; MOHKTAR, M. S.; IBRAHIM, F. The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases. **Sensors (Switzerland)**, v. 14, n. 6, p. 10895–10928, 2014.
- KHERA, A. V et al. Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood. **Cell**, v. 177, n. 3, p. 587–596.e9, 18 abr. 2019.
- KHODARAHMI, M. et al. Dietary quality indices modifies the effects of melanocortin-4 receptor (MC4R) rs17782313 polymorphism on cardio-metabolic risk factors and hypothalamic hormones in obese adults. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2020.
- KILPELÄINEN, T. O. et al. Genetic variation near IRS1 associates with reduced adiposity and an impaired metabolic profile. **Nature genetics**, v. 43, n. 8, p. 753–760, 26 jun. 2011.
- KIM, G. W. et al. Regulation of appetite to treat obesity. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 243–259, 2011.
- KLOP, B.; ELTE, J. W. F.; CABEZAS, M. C. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1218–1240, 12 abr. 2013.
- KOLB, R.; SUTTERWALA, F. S.; ZHANG, W. Obesity and cancer: inflammation bridges the two. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 29, p. 77–89, 2016.
- KONG, L. et al. Study on the relationship between G1057D variants of IRS2 gene and obese T2DM in Chinese Han subjects. **Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi = Zhonghua yixue yichuanxue zazhi = Chinese journal of medical**

- genetics**, v. 22, n. 4, p. 387–390, ago. 2005.
- KÖNNER, A. C. et al. Insulin Action in AgRP-Expressing Neurons Is Required for Suppression of Hepatic Glucose Production. **Cell Metabolism**, v. 5, n. 6, p. 438–449, 2007.
- KÖNNER, A. C.; BRÜNING, J. C. Selective insulin and leptin resistance in metabolic disorders. **Cell Metabolism**, v. 16, n. 2, p. 144–152, 2012.
- KORNER, J.; WOODS, S. C.; WOODWORTH, K. A. Regulation of energy homeostasis and health consequences in obesity. **American Journal of Medicine**, v. 122, n. 4 SUPPL. 1, 2009.
- KOYA, C. et al. Association between Two Common Missense Substitutions, Thr6Lys and Val81Ile, in MC3R Gene and Childhood Obesity: A Meta-Analysis. **Childhood Obesity**, v. 14, n. 4, p. 218–226, 2018.
- KRAUSE, M. P. et al. Association between lipid profile and adiposity in women over age 60. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 89, n. 3, p. 147–53, 163–9, 2007.
- KUBOTA, N. et al. Insulin receptor substrate 2 plays a crucial role in beta cells and the hypothalamus. **The Journal of clinical investigation**, v. 114, n. 7, p. 917–927, out. 2004.
- KUBOTA, T.; KUBOTA, N.; KADOWAKI, T. Imbalanced Insulin Actions in Obesity and Type 2 Diabetes: Key Mouse Models of Insulin Signaling Pathway. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 4, p. 797–810, 2017.
- KYLE, U. G. et al. Bioelectrical impedance analysis - Part I: Review of principles and methods. **Clinical Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1226–1243, 2004.
- LANDECHO, M. F. et al. Relevance of Leptin and Other Adipokines in Obesity-Associated Cardiovascular Risk. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 1–16, 2019.
- LAZZER, S. et al. Relationship Between Basal Metabolic Rate, Gender, Age, and Body Composition in 8,780 White Obese Subjects. **Obesity**, v. 18, n. 1, p. 71–78, jan. 2010.
- LEE, J. S.; CHEONG, H. S.; SHIN, H. D. BMI prediction within a Korean population. **PeerJ**, v. 2017, n. 6, p. 1–15, 2017.
- LEON-CABRERA, S. et al. Hyperleptinemia is associated with parameters of low-grade systemic inflammation and metabolic dysfunction in obese human beings. **Frontiers in Integrative Neuroscience**, v. 7, p. 62, 2013.

- LI, Q. et al. Associations between two single-nucleotide polymorphisms (rs1801278 and rs2943641) of insulin receptor substrate 1 gene and type 2 diabetes susceptibility: a meta-analysis. **Endocrine**, v. 51, n. 1, p. 52–62, jan. 2016.
- LIN, X. et al. Dysregulation of insulin receptor substrate 2 in beta cells and brain causes obesity and diabetes. **The Journal of clinical investigation**, v. 114, n. 7, p. 908–916, out. 2004.
- LOOS, R. J. F. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 26, n. 2, p. 211–226, 2012.
- LOPES, H. F. et al. Visceral adiposity syndrome. **Diabetology and Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2016.
- LUO, L.; LIU, M. Adipose tissue in control of metabolism. **Journal of Endocrinology**, v. 231, n. 3, p. R77–R99, dez. 2016.
- MANNING, A. K. et al. A genome-wide approach accounting for body mass index identifies genetic variants influencing fasting glycemic traits and insulin resistance. **Nature Genetics**, v. 44, n. 6, p. 659–669, 13 jun. 2012.
- MANRIQUEZ, V. et al. Polymorphisms in Genes Involved in the Leptin-Melanocortin Pathway are Associated with Obesity-Related Cardiometabolic Alterations in a Southern Chilean Population. **Molecular Diagnosis and Therapy**, v. 22, n. 1, p. 101–113, 2018.
- MANTOVANI, R. M. et al. Alterações precoces nos níveis de adipocinas de sobrepeso para obesidade em crianças e adolescentes. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 6, p. 624–630, 2016.
- MARLATT, K. L.; RAVUSSIN, E. Brown Adipose Tissue: An Update on Recent Findings. **Curr Obes Rep.**, v. 6, n. 4, p. 389–396, 2017.
- MARTINS, K. A. et al. Comparação de métodos de avaliação da gordura corporal total e sua distribuição,. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 14, n. 4, p. 677–687, 2011.
- MARTINS, L. M. et al. Obesity, inflammation, and insulin resistance. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 4, p. 677–692, dez. 2014.
- MARTINS, M. D. C.; FALEIRO, L. L.; FONSECA, A. Relação entre a leptina, a massa corporal e a síndrome metabólica numa amostra da população adulta.

- Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 31, n. 11, p. 711–719, 2012.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigitel Brasil 2018: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquerito telefônico. **G. Estatística e Informação em Saúde**, p. 131, 2019.
- MITTENDORFER, B. Origins of metabolic complications in obesity: adipose tissue and free fatty acid trafficking. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 14, n. 6, p. 535–541, nov. 2011.
- MOHAMMADI, M. et al. Dietary patterns interact with the variations of 18q21.23 rs17782313 locus on regulation of hypothalamic-pituitary axis hormones and cardio-metabolic risk factors in obesity. **Eating and Weight Disorders**, n. 0123456789, 2020.
- MONTAZERIFAR, F. et al. Obesity, Serum Resistin and Leptin Levels Linked to Coronary Artery Disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 4, p. 348–353, 2016.
- MUTOMBO, P. B. W. B. et al. MC4R rs17782313 gene polymorphism was associated with glycated hemoglobin independently of its effect on BMI in Japanese: The Shimane COHRE study. **Endocrine Research**, v. 39, n. 3, p. 115–119, 2014.
- NCBI. **dbSNP Short Genetic Variations**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3746619>>. Acesso em: 14 abr. 2020.
- NIAZI, R. K. et al. Screening of 31 genes involved in monogenic forms of obesity in 23 Pakistani probands with early-onset childhood obesity: a case report. **BMC Medical Genetics**, v. 20, n. 1, p. 1–8, 2019.
- NOVOSELOVA, T. V.; CHAN, L. F.; CLARK, A. J. L. Pathophysiology of melanocortin receptors and their accessory proteins. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 32, n. 2, p. 93–106, 2018.
- NUTTALL, F. Q. Body mass index: Obesity, BMI, and health: A critical review. **Nutrition Today**, v. 50, n. 3, p. 117–128, 2015.
- OBREGÓN, A. M. et al. Melanocortin-3 receptor gene variants: Association with childhood obesity and eating behavior in Chilean families. **Nutrition**, v. 26, n. 7–8, p. 760–765, jul. 2010.
- OLIVEIRA, R. DE et al. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with

- adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 9, p. 677–684, 2013.
- OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature reviews. Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85–97, fev. 2011.
- PALEY, C. A.; JOHNSON, M. I. Abdominal obesity and metabolic syndrome: Exercise as medicine? **BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2018.
- PÂMELLA, A. et al. Revisão Sobrepeso e obesidade infantil – um problema de saúde pública em escolares de norte a sul do país. **Artigo Sobrepeso e obesidade infantil um problema de saúde publica em escolares de norte a sul do país**, v. 10, n. 6, p. 371–376, 2011.
- PAPA, A.; PIRFO, C.; MURAD, A. Impacto da obesidade no prognóstico do câncer de mama. ... **Brasileira de Oncologia ...**, v. 9, p. 25–30, 2013.
- PARK, H.-K.; AHIMA, R. S. Leptin signaling. **F1000prime reports**, v. 6, n. September, p. 73, 2014.
- PARK, J.; SHARMA, N.; CUTTING, G. R. Melanocortin 3 receptor has a 5' exon that directs translation of apically localized protein from the second in-frame ATG. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 9, p. 1547–1557, 2014.
- PEREZ-MARTINEZ, P. et al. Insulin receptor substrate-2 gene variants in subjects with metabolic syndrome: association with plasma monounsaturated and n-3 polyunsaturated fatty acid levels and insulin resistance. **Molecular nutrition & food research**, v. 56, n. 2, p. 309–315, fev. 2012.
- PINTO, W. D. J. a Função Endócrina Do Tecido Adiposo. **Rev. Fac. Ciências Méd. Sorocaba**, v. 16, n. 3, p. 111–120, 2014.
- POPKIN, B. M. Global nutrition dynamics: The world is shifting rapidly toward a diet linked with noncommunicable diseases. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, n. 2, p. 289–298, 2006.
- POVEL, C. M. et al. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) involved in insulin resistance, weight regulation, lipid metabolism and inflammation in relation to metabolic syndrome: an epidemiological study. **Cardiovascular Diabetology**, v. 11, 2012.
- PREVENTION, C. FOR D. C. AND. **Defining Adult Overweight and Obesity**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/obesity/adult/defining.html>>. Acesso

em: 30 set. 2019.

- PROENÇA, A. C. et al. The association of the fat mass and polymorphism and the severe obesity in a Brazilian population. p. 667–684, 2019.
- QI, Q. et al. Genetic variation near IRS1 is associated with adiposity and a favorable metabolic profile in U.S. Hispanics/Latinos. **Obesity**, v. 24, n. 11, p. 2407–2413, nov. 2016.
- QIU, J. et al. Insulin excites anorexigenic proopiomelanocortin neurons via activation of canonical transient receptor potential channels. **Cell metabolism**, v. 19, n. 4, p. 682–693, 1 abr. 2014.
- REUTER, C. P. et al. Dislipidemia associa-se com falta de aptidão e sobrepeso-obesidade em crianças e adolescentes. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 106, n. 3, p. 188–193, 2016.
- RIFFO-CAMPOS, Á. L.; RIQUELME, I.; BREBI-MIEVILLE, P. Tools for sequence-based miRNA target prediction: What to choose? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, 2016.
- RODACKI, M. Obesity and dyslipidemia – An urgent matter in youth from the general population and in type 1 diabetic patients. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 59, n. 3, p. 199–201, 2015.
- RUNG, J. et al. Genetic variant near IRS1 is associated with type 2 diabetes, insulin resistance and hyperinsulinemia. **Nature Genetics**, v. 41, n. 10, p. 1110–1115, 2009.
- SADAGURSKI, M. et al. IRS2 signaling in LepR-b neurons suppresses FoxO1 to control energy balance independently of leptin action. **Cell metabolism**, v. 15, n. 5, p. 703–712, 2 maio 2012.
- SAMODIEN, E. et al. Diet-induced DNA methylation within the hypothalamic arcuate nucleus and dysregulated leptin and insulin signaling in the pathophysiology of obesity. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 10, p. 3131–3145, 5 set. 2019.
- SAMPSON, U. K. A. et al. Factors associated with the prevalence of hypertension in the southeastern united states: insights from 69 211 blacks and whites in the southern community cohort study. **Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes**, v. 7, n. 1, p. 33–54, 2014.
- SANTOS, J. L. et al. Allelic variants of melanocortin 3 receptor gene (MC3R) and

- weight loss in obesity: a randomised trial of hypo-energetic high- versus low-fat diets. **PloS one**, v. 6, n. 6, p. e19934–e19934, 2011.
- SAVASTANO, D. M. et al. Energy intake and energy expenditure among children with polymorphisms of the melanocortin-3 receptor. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 4, p. 912–920, 2009.
- SBC. Updated Geriatric Cardiology Guidelines of the Brazilian Society of Cardiology - 2019. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 112, n. 5, p. 649–705, 2019.
- SBD. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. p. 3–383, 2018.
- SCHALIN-JÄNTTI, C. et al. Melanocortin-3-receptor gene variants in morbid obesity. **International Journal of Obesity**, v. 27, n. 1, p. 70–74, 2003.
- SECRETAN, B. L. et al. Body Fatness and Cancer — Viewpoint of the IARC Working Group. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 8, p. 794–798, 2016.
- SHAW, L. M. The insulin receptor substrate (IRS) proteins: at the intersection of metabolism and cancer. **Cell cycle (Georgetown, Tex.)**, v. 10, n. 11, p. 1750–1756, 1 jun. 2011.
- SILVENTOINEN, K.; KAPRIO, J. Genetics of tracking of body mass index from birth to late middle age: Evidence from twin and family studies. **Obesity Facts**, v. 2, n. 3, p. 196–202, 2009.
- SINGH, R. K.; KUMAR, P.; MAHALINGAM, K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. **Comptes Rendus - Biologies**, v. 340, n. 2, p. 87–108, 2017.
- SIPPEL, C. et al. PROCESSOS INFLAMATÓRIOS DA OBESIDADE. **Revista de Atenção à Saude**, v. 12, n. 42, p. 48–56, 29 maio 2014.
- SPERETTA, G. F.; LEITE, R. D.; DUARTE, A. C. D. O. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 1, 2014.
- ST-PIERRE, J.; TREMBLAY, M. L. Modulation of leptin resistance by protein tyrosine phosphatases. **Cell Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 292–297, 2012.
- STONE, T. W.; MCPHERSON, M.; GAIL DARLINGTON, L. Obesity and Cancer: Existing and New Hypotheses for a Causal Connection. **EBioMedicine**, v. 30, p. 14–28, 2018.

- SUN, X. J. et al. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. **Nature**, v. 352, n. 6330, p. 73–77, 1991.
- SUN, X. J. et al. Role of IRS-2 in insulin and cytokine signalling. **Nature**, v. 377, n. 6545, p. 173–177, 1995.
- SUNG, R. Y. T. et al. Waist circumference and waist-to-height ratio of Hong Kong Chinese children. **BMC Public Health**, v. 8, p. 1–10, 2008.
- SWEENEY, C. et al. Insulin-like growth factor pathway polymorphisms associated with body size in Hispanic and non-Hispanic white women. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 14, n. 7, p. 1802–1809, 2005.
- SZABLEWSKI, L. Introductory Chapter: Types of Adipose Tissue. **Adipose Tissue**, p. 3–6, 30 maio 2018.
- TANG, Y. et al. MeQTL analysis of childhood obesity links epigenetics with a risk SNP rs17782313 near MC4R from meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 2800–2806, 2017.
- THAKER, V. V. Genetic and Epigenetic Causes of Obesity. **Adolescent medicine: state of the art reviews**, v. 28, n. 2, p. 379–405, 2017.
- TZANAVARI, T.; GIANNOGONAS, P.; KARALIS, K. P. TNF- α and Obesity. **Current Directions in Autoimmunity**, v. 11, p. 145–156, 2010.
- VAN DE SANDE-LEE, S.; VELLOSO, L. A. Disfunção hipotalâmica na obesidade TT - Hypothalamic dysfunction in obesity. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 56, n. 6, p. 341–350, 2012.
- VAN DER KLAUW, A. A.; FAROOQI, I. S. The hunger genes: Pathways to obesity. **Cell**, v. 161, n. 1, p. 119–132, 2015.
- VARELA, L.; HORVATH, T. L. Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. **EMBO reports**, v. 13, n. 12, p. 1079–1086, dez. 2012.
- VEGA, J. A. et al. Melanocortin-4 Receptor Gene Variation Is Associated with Eating Behavior in Chilean Adults. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 68, n. 1, p. 35–41, 2016.
- VEKIC, J. et al. Obesity and dyslipidemia. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 92, p. 71–81, 2019.
- VILLUENDAS, G. et al. Polymorphisms in the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene and the insulin receptor substrate-2 (IRS-2) gene influence glucose

- homeostasis and body mass index in women with polycystic ovary syndrome and non-hyperandrogenic controls. **Human Reproduction**, v. 20, n. 11, p. 3184–3191, 21 jul. 2005.
- WANG, L. et al. Ethnic Differences in Risk Factors for Obesity among Adults in California, the United States. **Journal of Obesity**, v. 2017, 2017.
- WASIM, M. Obesity & Weight Loss Therapy Role of Leptin in Obesity. **Journal of Obesity & Weight Loss Therapy**, v. 5, n. 2, p. 12–14, 2015.
- WELSH, P. et al. Unraveling the directional link between adiposity and inflammation: a bidirectional Mendelian randomization approach. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 95, n. 1, p. 93–99, jan. 2010.
- WHITE, M. F.; MARON, R.; KAHN, C. R. Insulin rapidly stimulates tyrosine phosphorylation of a M r-185,000 protein in intact cells. **Nature**, v. 318, n. 6042, p. 183–186, 1985.
- WHO. **Organization, world Health**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 9 out. 2016.
- WOUDBERG, N. J. et al. Association between ethnicity and obesity with high-density lipoprotein (HDL) function and subclass distribution. **Lipids in Health and Disease**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2016.
- YANG, Z.; TAO, Y. X. Mutations in Melanocortin-3 Receptor Gene and Human Obesity. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 140, p. 97–129, 2016.
- YE, J.; KELLER, J. N. Regulation of energy metabolism by inflammation: A feedback response in obesity and calorie restriction. **Aging**, v. 2, n. 6, p. 361–368, 6 jun. 2010.
- YILMAZ, Z. et al. Association between MC4R rs17782313 polymorphism and overeating behaviors. **International journal of obesity (2005)**, v. 39, n. 1, p. 114–120, jan. 2015.
- YU, K. et al. Association between MC4R rs17782313 genotype and obesity: A meta-analysis. **Gene**, v. 733, 2020.
- ZAYANI, N. et al. Resistin polymorphisms, plasma resistin levels and obesity in Tunisian volunteers. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 32, n. 2, p. e22227, fev. 2018.
- ZEGERS, D. et al. Common melanocortin-3 receptor variants are not associated

with obesity, although rs3746619 does influence weight in obese individuals.

Endocrine, v. 38, n. 2, p. 289–293, 2010.

ZHOU, Y.; RUI, L. Leptin signaling and leptin resistance. **Frontiers of medicine**, v. 7, n. 2, p. 207–222, jun. 2013.

ANEXOS

Anexo 1. Aprovação CEP HU/USP

São Paulo, 16 de maio de 2008.

Prezada, Sra.,
Profa. Dra. Rosario Domínguez Crespo Hirata
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** "Interação entre polimorfismos de genes envolvidos na homeostase energética e na sensibilidade à insulina e a resposta a uma intervenção dietética para redução do peso corporal em indivíduos obesos" – **Co-autores(es)**: Prof. Dr. Mario Hirayuki Hirata, Raquel de Oliveira, Dra. Marcia Martins Silveira Bemik, Dr. Egidio Lima Dórea, Tânia Regina Sarcinetti, Evelyn Aguchiku, Dra. Ivanise Marina Moretti Rebecchi, Cristiane Mika Fuji, Dra. Mônica Inez Elias Jorge – **Registro CEP-HU/USP**: 812/08 – **Área Temática Especial**: Grupo II – Genética Humana

Prezada(o) Senhor(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião realizada no dia 16 de maio de 2008, analisou o projeto de pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO**, bem como, o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Informamos que a **Folha de Rosto para pesquisa envolvendo seres humanos (FR-187407)** e parecer consubstanciado referente ao projeto serão encaminhados à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Ministério da Saúde (CONEP/MS), para acompanhamento do Estudo.

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios semestrais (e relatório final ao término do trabalho), de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde 196/96, item IX.2.c. **O primeiro relatório está previsto para 16 de novembro de 2008.**

Atenciosamente,

Dr. Maurício Seckler
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 2465 – Cidade Universitária – CEP: 05508-900 – São Paulo – SP
Tele: (11) 3091-9457 ou 9479 – Fax: (11) 3091-9452 – E-mail: cep@hau.usp.br

Anexo 2. Aprovação CEP FCF/USP (no.471)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Ofício CEP nº 47/2008

São Paulo, 27 de maio de 2007.

Ilmo(a). Sr(a).
Profa. Dra. Rosário Domingues Crespo Hirata
FBC

Prezado(a) Senhor(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCF/USP, em reunião realizada em 26 de maio de 2008, **APROVOU** o projeto "Interação entre polimorfismos de genes envolvidos na homeostase energética e na sensibilidade à insulina e a resposta a uma intervenção dietética para redução do peso corporal em indivíduos obesos." (Protocolo CEP nº 471) apresentado por Vossa Senhoria, devendo apenas ser corrigido no 1º parágrafo do verso do TCLE: ...Pode **ocorrer** um desconforto..."

Aguardamos pronunciamento de Vossa Senhoria no prazo de 60 dias, conforme determina a Resolução CNS/196/96.

Lembramos que após a execução de 50% do cronograma do projeto, deverá ser apresentado um relatório parcial, de acordo com o Artigo 18 – item C, da Portaria FCF-111/97.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Elvira Maria Guerra Shinohara
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
FCF/USP

Anexo 3. Aprovação CEP FCF/USP (no.585)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer CEP/FCF/120/2011
Protocolo CEP/FCF/585
CAAE: 0030.0.018.131-11

I - Identificação:

Projeto de Pesquisa	Estudo dos polimorfismos dos genes <i>CD40</i> , <i>ICAM1</i> , <i>VCAM1</i> , <i>E-selectina</i> , <i>LIGHT</i> , <i>RAGE</i> e <i>CX3CR1</i> relacionados com inflamação e sua associação ao sobrepeso corporal
Pesquisador Responsável	Prof. Dr. Mário Hiroyuki Hirata
Aluno de pós-graduação envolvido	Aécio Assunção Braga
Instituição	Faculdade de Ciências farmacêuticas – USP

II - Sumário Geral do Protocolo:

Acredita-se que a obesidade seja decorrente de um desequilíbrio entre a quantidade de energia ingerida e o gasto energético por um longo período. Segundo dados da OMS, estima-se que existam cerca de 1,5 bilhão de adultos que estão acima do peso no mundo e desses, mais de 200 milhões de homens e quase 300 milhões de mulheres obesas. O objetivo deste estudo será investigar a influência de polimorfismos dos genes *CD40*, *ICAM1*, *VCAM1*, *E-selectina*, *LIGHT*, *RAGE* e *CX3CR1* em leucócitos do sangue periférico na obesidade de indivíduos com sobrepeso. Participarão desse estudo 100 indivíduos obesos e 100 não-obesos triados no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC), de ambos os sexos, com idade de 30 à 70 anos; Serão avaliados parâmetros bioquímicos, inflamatórios como colesterol total e frações, triglicérides HbA_{1c}, e glicemia, assim como, as determinações de *CD40*, *ICAM1*, *VCAM1*, *E-selectina*, *LIGHT*, *RAGE* e *CX3CR1*. Serão analisados dados antropométricos como altura, pressão arterial e IMC. Os polimorfismos genéticos serão analisados por PiroSequenciamento e os estudos de expressão gênica serão analisados pela PCR em tempo real. Os resultados deste estudo contribuirão para o conhecimento da influência de polimorfismos dos genes *CD40*, *ICAM1*, *VCAM1*, *E-selectina*, *LIGHT*, *RAGE* e *CX3CR1* em indivíduos obesos promovendo uma melhor abordagem terapêutica aos pacientes.

Os objetivos do presente estudo são:

Determinar a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *CD40* (rs1883832), *ICAM1* (rs281432 e rs1799969), *VCAM1* (rs3176878), *E-selectina* (rs5368), *LIGHT* (rs344560 e rs2291668), *RAGE* (rs2070600 e rs2236493) e *CX3CR1* (rs3732379 e rs3732378) em pacientes obesos;

Verificar a expressão dos genes *CD40*, *ICAM1*, *VCAM1*, *E-selectina*, *LIGHT*, *RAGE* e *CX3CR1* nas células periféricas de pacientes obesos;

Relacionar a presença dos principais SNPs dos genes *CD40*, *ICAM1*, *VCAM1*, *E-selectina*, *LIGHT*, *RAGE* e *CX3CR1* com alguns fatores de risco para desenvolvimento da obesidade

Tipo de estudo:

Caso-controle

Descrição da Casuística:

Serão estudados 100 indivíduos obesos (IMC > 30 kg/m²) e 100 não-obesos sem vínculo genético, com idade entre 30 e 70 anos, que serão selecionados no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC). Para o estudo, o tamanho da amostra foi calculado com base na prática clínica observada no Instituto Dante Pazzanese de

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Cardiologia (IDPC). O cálculo foi realizado para um estudo com 80% de poder de significância 0,05, p bicaudal. O N indicado foi de aproximadamente 147. Desta forma, optou-se pelo N de 100 pacientes para participar do estudo de expressão gênica e 200 pacientes para o estudo de polimorfismos genéticos.

Será aplicado um questionário, contendo algumas informações pessoais, como se possui o hábito de fumar, beber, se possui algum tipo de doença (hipertensão, alterações nos níveis de colesterol, diabetes, depressão), ou doença na família e se faz uso de algum tipo de medicamento de uso contínuo. O questionário está inserido no corpo do projeto.

As amostras de sangue serão coletadas após jejum de 10 a 12 horas em tubos modelo vacutainer™ (Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino Unido). Para as determinações bioquímicas de perfil lipídico serão coletados em tubos de 10 mL com gel separador com ativador de coágulo. Para glicemia serão coletados 2 mL de sangue em tubos contendo Fluoreto de sódio + EDTA. Para a genotipagem e expressão gênica serão coletados 30 mL de sangue com anticoagulante EDTA (3 tubos de 10 mL de sangue). Os soros e plasma serão separados e mantidos a -20°C até sua posterior utilização na determinação das diversos marcadores inflamatórios.

Os critérios de inclusão dos participantes são:

Para o grupo de estudo: ser obeso ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$), ter entre 30 e 70 anos e estar sendo atendido no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

Para o grupo controle: não ser obeso, ter entre 30 e 70 anos e estar sendo atendido no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

Serão critérios de exclusão: indivíduos com hipo- ou hipertireoidismo, síndrome de Cushing, hipogonadismo em homens, hiperandrogenismo em mulheres e outros tipos de obesidade secundária. Também serão excluídos os portadores de doença hepática, renal ou gastro-intestinal grave, mulheres grávidas ou indivíduos que não aceitem participar do estudo.

III – Situação do Protocolo: APROVADO em reunião de 25/07/2011.

Cabe ao pesquisador:

- Comunicar ao CEP:
 - A ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
 - Eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
 - A interrupção do projeto;
- Apresentar relatório parcial em julho/12 e relatório final em julho/13 (modelo do CEP).

São Paulo, 26 de julho de 2011.

Prof. Dra. Mariza Landgraf
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/FCF/USP

Anexo 4. Aprovação CEP Instituto Dante Pazzanese

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

DATA DA ENTRADA: 11 de agosto de 2011.

DATA DA AVALIAÇÃO: 12 de agosto de 2011.

CAAE: 0030.0.018.131-11/ FR 430344

Nº DO PROTOCOLO NO CEP: 4134

(este nº. deverá citar nas correspondências referentes a este projeto)

Investigador Principal: Mario Hiroyuki Hirata

Nº de Sujeitos no Centro: 300

Nº de Sujeitos no Brasil: 300

Nº de Sujeitos Total: 300

Área de Conhecimento: Ciências Biológicas

Área Temática Especial: Genética Humana

Unitermos: Obesidade, inflamação, polimorfismos genéticos

Fase: Não se aplica

Nível: Não informado

Duração do Estudo:

Patrocinador: Não se aplica

Grupo: II

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêutica da Universidade de São Paulo

Instituição Co-Participante: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

CEP: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

Projeto de Pesquisa Clínica: "Estudo dos polimorfismos dos genes CD40, ICAM1, VCAM1, E-selectina, LIGHT, RAGE e CX3CR1 relacionados com inflamação e sua associação ao sobrepeso corporal".

Considerações/Comentários: O presente estudo tem como objetivo determinar a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos do gene CD40 (rs1883832), ICAM1 (rs281432 e rs1799969), VCAM1 (rs3176878), E-selectina (rs5368), LIGHT

Av. Dr. Dante Pazzanese, 500 - Ibirapuera - São Paulo - SP - CEP: 04012-909 - Fone: (11) 5085 6040 - E-mail: cep@dantepezanese.org.br

FORM 001IDPC Mar/09 rev.1

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

(rs344560 e rs2291668), RAGE (rs2070600 e rs2236493) e CX3CR1 (rs3732379 e rs3732378) em pacientes obesos; verificar a expressão dos genes CD40, ICAM1, VCAM1, E-selectina, LIGHT, RAGE e CX3CR1 nas células periféricas de pacientes obesos; relacionar a presença dos principais SNPs dos genes CD40, ICAM1, VCAM1, E-selectina, LIGHT, RAGE e CX3CR1 com alguns fatores de risco para desenvolvimento da obesidade.

Ao se proceder à análise ao projeto em questão, considera-se que:

- O projeto preenche os requisitos fundamentais das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.
- O Comitê de Ética em Pesquisa avaliou o Protocolo de Estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- O Comitê de Ética em Pesquisa segue os preceitos das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.

Diante do exposto, O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, declara

"Declaro ter lido e concordar com o parecer ético emitido pelo CEP da Instituição proponente, conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar.

São Paulo, 12 de agosto de 2011.

Pedro L. Farsky

Pedro Silvio Farsky
Coordenador CEP
CRM 55073

Dr. Pedro Silvio Farsky
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia