

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Departamento de Genética, Ecologia e Evolução
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós Graduação em Genética

Gabriel Batista

**VALIDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DA VARIANTE RS114066381 (DE ORIGEM
AFRICANA E POTENCIALMENTE REGULADORA) COM OBESIDADE EM
MULHERES**

Belo Horizonte

2024

Gabriel Batista

**VALIDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DA VARIANTE RS114066381 (DE ORIGEM
AFRICANA E POTENCIALMENTE REGULADORA) COM OBESIDADE EM
MULHERES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Eduardo Tarazona Santos

Coorientadora: Hanaísa de Plá Sant'Anna

Belo Horizonte

2024

043

Batista, Gabriel.

Validação da associação da variante RS114066381 (de origem africana e potencialmente reguladora) com obesidade em mulheres [manuscrito] / Gabriel Batista. – 2024.

83 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Eduardo Tarazona Santos. Coorientadora: Hanaísa de Plá Sant'Anna.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Genética Populacional. 2. Miscigenação. 3. Obesidade. I. Santos, Eduardo Martin Tarazona. II. Sant'Anna, Hanaísa de Plá. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ICB - COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA - SECRETARIA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO

358/2024

entrada

1º/2022

Gabriel Batista

CPF: 130.086.606-30

Às quatorze horas do dia **14 de maio de 2024**, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: "**VALIDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DA VARIANTE rs114066381 (DE ORIGEM AFRICANA E POTENCIALMENTE REGULADORA) COM OBESIDADE EM MULHERES**", requisito para obtenção do grau de Mestre em **Genética**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, **Eduardo Martin Tarazona**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao candidato, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição de resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	CPF	Indicação
Eduardo Martin Tarazona	UFMG	012.494.056-02	APROVADO
Janaína de Oliveira Melo	UFVJM	061.394.806-80	APROVADO
Maria Raquel Santos Carvalho	UFMG	349.651.730-	APROVADO

Pelas indicações, o candidato foi considerado: **APROVADO**

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 14 de maio de 2024.

Eduardo Martin Tarazona- UFMG

Janaína de Oliveira Melo- UFVJM

Maria Raquel Santos Carvalho- UFMG

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Martin Tarazona Santos, Professor do Magistério Superior**, em 14/05/2024, às 15:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Janaína de Oliveira Melo, Usuário Externo**, em 14/05/2024, às 16:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Raquel Santos Carvalho, Membro**, em 14/05/2024, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3233821** e o código CRC **4916B440**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus avós maternos e pais de criação Sebastião das Graças Batista e Efigênia Célia Pinto Batista e mãe biológica Natália Pinto Batista pelo apoio aos estudos.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse concluir o ensino superior e a pós graduação.

À minha irmã Tainara Batista Calassa por seu apoio financeiro e emocional em minha trajetória acadêmica.

A todos os envolvidos na luta pelas cotas nas universidades federais e estaduais; a luta de vocês me permitiram a entrada na USP São Carlos.

À Beatriz Saraiva, Renata Massote e Carmen Vieira, por acreditarem no meu sonho e contribuírem financeiramente para minha estadia em São Carlos.

À todos os meus amigos de trabalho, em especial a minha co-orientadora Hanaísa de Plá e aos colegas Ricardo Lyra e Karwhory Wallas. Vocês permitiram que essa trajetória fosse mais leve e enriquecedora.

Ao orientador Eduardo Tarazona pelo oferecimento da oportunidade de desenvolvimento desse estudo.

Ao Prof. Renan Pedra de Souza pelo auxílio na análise estatística dos dados e ao Prof. Renato Santana de Aguiar pela doação de alguns reagentes.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro dos últimos 2 anos.

“O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano”

Isaac Newton

RESUMO

A obesidade é uma doença de caráter multifatorial com grande prevalência nacional e mundial e têm apresentado aumento de casos nas últimas décadas. O IMC (Índice de Massa Corporal) é uma das formas mais usadas para classificação de indivíduos e identificação de casos da doença ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) (OMS, 2000a), apesar de suas limitações. No contexto de populações miscigenadas, como a brasileira, a técnica de mapeamento por miscigenação se apresenta como uma alternativa promissora de identificação de novas variantes genéticas relacionadas a fenótipos complexos, como a obesidade, em relação aos estudos de associação tradicionais. Nesta conjuntura, Scliar *et al.* (2021) identificaram a variante rs114066381G>A associada positivamente com o IMC em mulheres de ancestralidade africana. Como este resultado foi obtido a partir de dados imputados, que apresentam grau de incerteza inerente, este trabalho teve como objetivo avaliar a associação de rs114066381 com o IMC a partir da genotipagem de mulheres com obesidade em tratamento no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais e no Hospital Santa Casa Belo Horizonte. As coortes de Bambuí e Pelotas do EPIGEN, analisadas em Scliar *et al.* (2021), foram utilizadas para comparação. A partir de teste de associação exato de Fisher, replicamos o resultado de Scliar *et al.* (2021) utilizando a coorte de Pelotas e as duas coortes do EPIGEN em conjunto com valores significativos de RC (Razão de Chance) respectivos de 4,07 e 3,73. Não foi possível replicar a associação na coorte de Bambuí possivelmente por baixo tamanho amostral. Dessa forma, a variante rs114066381 pode ser uma nova variante fortemente relacionada à obesidade, sendo necessários futuros estudos funcionais que possam revelar seu possível mecanismo funcional.

Palavras-chave: obesidade; mapeamento por miscigenação; populações miscigenadas.

ABSTRACT

Obesity is a multifactorial disease with high national and global prevalence and there is an increase in cases in recent decades. BMI (Body Mass Index) is one of the most used ways to classify individuals and identify cases of the disease (BMI>30kg/m²) (WHO, 2000a), despite its limitations. In the context of mixed populations, such as Brazil, the admixture mapping technique is a promising alternative for identifying new genetic variants related to complex phenotypes, such as obesity, in comparison to traditional association studies. In this circumstance, Scliar et al. (2021) identified the rs114066381G>A variant positively associated with BMI in women of African ancestry. As this result was obtained from imputed data, which presents a degree of inherent uncertainty, this work aimed to evaluate the association of rs114066381 with BMI based on genotyping of women with obesity and undergoing treatment at the Hospital das Clínicas of the Federal University of Minas Gerais and at Hospital Santa Casa Belo Horizonte. The EPIGEN Bambuí and Pelotas cohorts, analyzed in Scliar et al. (2021), were used for comparison. Using Fisher's exact association test, we replicated the results of Scliar et al. (2021) using both the Pelotas cohort and the two cohorts in conjunction as a control with respective significant OR values (Odds Ratio) of 4.07 and 3.73. It was not possible to replicate the association in the Bambuí cohort, possibly due to a low sample size. Thus, the rs114066381 variant could be a new variant strongly related to obesity, requiring future functional studies that could reveal its possible functional mechanism.

Keywords: obesity; admixture mapping; mixed populations.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fatores relacionados com a obesidade..... 19
- Figura 2 - Diferenças de composição corporal, hábitos alimentares e expressão de receptores de hormônios sexuais entre gêneros..... 27
- Figura 3 - Encurtamento dos segmentos cromossômicos de ancestralidade com o decorrer das gerações da população miscigenada. No esquema, os tons de verde correspondem às ancestralidades de duas populações parentais distintas..... 29
- Figura 4 - Esquema representativo do processo de miscigenação a nível cromossômico (a e b) e do mapeamento por miscigenação em estudos do tipo caso-controle (c). Cada cor representa a ancestralidade de uma população parental distinta. Em (c) à direita: gráfico da ancestralidade estimada da população parental 1 (azul) por posição cromossômica. Em (c), à esquerda: comparação entre os segmentos de ancestralidade da região em amarelo nos grupos caso e controle. Repare que a ancestralidade representada pela cor azul é substancialmente mais presente nessa região no grupo caso em relação ao grupo controle, sendo uma forte candidata à associação com o fenótipo em estudo..... 32
- Figura 5 - Gráfico de barras de ancestralidade individual continental de cada coorte do EPIGEN (à esquerda) e histograma do IMC ajustado por sexo e idade de acordo com guia da OMS por coorte (à direita)..... 35
- Figura 6 - Gráfico Manhattan dos resultados de mapeamento por miscigenação em mulheres da coorte de Pelotas para a ancestralidade europeia. Observou-se, através da análise de regressão linear, que a ancestralidade europeia estava negativamente relacionada ao IMC na região cromossômica 13q12.3 de ~119 kb de tamanho, com contribuição de -0,95 unidades de IMC para cada cópia de ancestralidade.....36
- Figura 7 - Gráfico dos resultados de mapeamento fino da região cromossômica 13q12.3 para a ancestralidade europeia em mulheres feito pelo programa LocusZoom. O desequilíbrio de ligação entre o SNP rs114066381 e seus vizinhos está representado pelos valores de r^2 esquematizados por cores (canto superior à direita) de acordo com dados da população africana do projeto 1000 Genomes..... 36
- Figura 8 - Visualização de dados genômicos, regulatórios e populacionais pelo

Genome Browser. É possível observar a posição do SNP rs114066381 (quadro vermelho), os acentuadores mais próximos (quadro verde) e a análise de conservação em vertebrados (quadro roxo).....49

Figura 9 - Visualização de regiões regulatórias do ReMap, banco de dados de regiões regulatórias de transcrição a partir de dados CHIP-seq,CHIP-exo e DAP-seq dos bancos de dados públicos Gene Expression Omnibus (GEO), Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) e ArrayExpress. A posição do SNP rs114066381 está indicada pelo quadro vermelho..... 49

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Fluorescência das sondas VIC (eixo x) e FAM (eixo y) das amostras de DNA de mulheres com obesidade amplificadas em RFUs (Relative Fluorescence Units ou Unidades de Fluorescência Relativa, em português). As mulheres identificadas como homozigotas para o alelo selvagem do rs114066381 (G/G) estão representadas pelos pontos azuis e heterozigotas (G/A) pelos pontos em laranja... 42
- Gráfico 2 - Porcentagem de amostras de mulheres com obesidade da coorte de BH por genótipo do rs114066381..... 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de indivíduos adultos de acordo com o IMC.....	22
Tabela 2 - Associação de rs114066381-A com o IMC em mulheres não aparentadas de Pelotas e replicações em outras coortes de mulheres não aparentadas.....	37
Tabela 3 - Condições de PCR utilizadas para a genotipagem dos indivíduos referente ao SNP rs114066381.....	41
Tabela 4 - Sequência 5'-3' dos primers e das sondas do kit customizado TaqMan SNP Genotyping Assay (ID ANXHCNC).....	41
Tabela 5 - Tamanho amostral (N) e frequência genotípica de heterozigotos do rs11406681 no público feminino com obesidade das coortes de BH e do EPIGEN (Bambuí e Pelotas).....	43
Tabela 6 - Valores de estatística de teste Z e valor p associado (valor de significância de 0,05 e teste bicaudal aplicados).....	44
Tabela 7 - Número de alelos total (2N), por alelo e frequência do alelo A das coortes em estudo (somente mulheres).....	45
Tabela 8 - Valores de razão de chance (RC) do teste exato de Fisher e valor p associado (somente mulheres).....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1KGP: 1000 Genomes Project

AIM: Ancestry-Informative Marker

BMI: Body Mass Index

C/EBP: CCAAT/EnhancerBinding Protein

CAAE: Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

CNV: Copy Number Variants

DNA: Deoxyribonucleic Acid

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

ENCODE: Encyclopedia of DNA Elements

FTO: Fat Mass and Obesity

GEO: Gene Expression Omnibus

GNOMAD: The Genome Aggregation Database

GWAS: Genome Wide Association Study

HC: Hospital das Clínicas

HUSH: Human Silencing Hub

IC: Intervalo de Confiança

IMC: Índice de Massa Corporal

KRAB-ZFP: Krüppel-associated box containing zinc finger proteins

LABIN: Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional

LD: Linkage Disequilibrium

LOD: Logarithm of the Odds score

MAF: Minor Allele Frequency

MCMC: Markov Chain Monte Carlo

ML: Maximum likelihood

MPHOSPH8: M-phase Phosphoprotein 8

NCDRF: Noncommunicable diseases: Risk factors

OCT4: Octamer-Binding Transcription Factor 4

OMS: Organização Mundial da Saúde

OR: Odds Ratio

PCR: Polymerase Chain Reaction

PNS: Pesquisa Nacional de Saúde

POU5F1: POU domain, class 5, transcription factor 1

PPAR γ : Proliferator-Activated Receptor Gamma

RC: Razão de Chance

RFU: Relative Fluorescence Unit

RS: Reference SNP

SABE: Saúde, Bem-estar e Envelhecimento

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

SNV: Single Nucleotide Variant

SUS: Sistema Único de Saúde

TE: Tris-EDTA

TOPMed: Trans-Omics for Precision Medicine

WHR: Waist:Hip Ratio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Obesidade.....	19
2.2. Arquitetura genética da obesidade.....	23
2.3. Ancestralidade, sexo e obesidade.....	26
2.4. Mapeamento por miscigenação (Admixture-Mapping).....	28
2.5. Descrição das coortes.....	38
3. OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo Geral.....	38
3.2 Objetivos Específicos.....	39
4. METODOLOGIA.....	39
4.1. Comitê de Ética e Desenho Experimental.....	39
4.2. Coleta de Células Bucais.....	40
4.3. Extração e Quantificação de Amostras de DNA.....	40
4.4. Genotipagem.....	40
4.5. Teste estatístico.....	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS.....	52
8. ANEXOS.....	66

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença de caráter multifatorial determinada por fatores ambientais e genéticos (Mahmoud *et al.*, 2022) caracterizada, de forma simplificada, pelo acúmulo excessivo de triglicerídeos no tecido adiposo (O'Rahilly, 2009).

Segundo o Atlas Mundial da Obesidade de 2023, quase 1 bilhão de pessoas, no mundo, com idade acima de 5 anos tiveram obesidade em 2020 (Federação Mundial da Obesidade, 2023). Esse número expressivo de casos é retrato de um aumento considerável de casos nas últimas décadas (Ng *et al.*, 2014).

Dentre as variáveis de medição de obesidade disponíveis, o Índice de Massa Corporal (IMC), medido em kg/m^2 , destaca-se pela sua praticidade clínica e baixo custo, ideal para aplicação mundial e comparação intra e interpopulacional. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), indivíduos obesos apresentam IMC acima de 30 kg/m^2 . Porém, esta variável possui algumas limitações, como não refletir a distribuição de gordura corporal, importante fator de risco da obesidade (OMS, 2000a).

Os fatores genéticos possuem grande importância para o estudo da doença, sendo que a herdabilidade da obesidade (porção da doença atrelada a causas genéticas) configura entre 40% e 70% (Stunkard *et al.*, 1986; Wardle *et al.*, 2008; Malis *et al.*, 2005; Moll *et al.*, 1991; Rose *et al.* 1998). Os estudos que buscam identificar as variantes genéticas relacionadas à obesidade apresentaram grande avanço após os estudos de GWAS (GWAS, da sigla em inglês para *Genome Wide Association Study*), técnica que permitiu a identificação de expressivo número de novas variantes genéticas relacionadas a fenótipos complexos comuns (como a obesidade) (Loos & Yeo, 2022).

Porém, a maior parte da herdabilidade do IMC ainda não teve seus mecanismos genéticos descobertos, já que somente 1,45% de 40-70% da herdabilidade dessa variável é conhecido geneticamente (Waalén, 2014).

Além disso, a maioria destes estudos de associação é realizada em populações europeias ou asiáticas (Loos & Yeo, 2022), o que pode-se conduzir à descoberta de variantes comuns relacionadas a doenças nessas populações e, no entanto, raras em outras populações, ou à casos em que a mesma variante genética

possui tamanhos do efeito (*Odds Ratio* ou razão de chance, em português, ou β) diferentes em populações distintas. Dessa forma, o estudo de variantes específicas de populações subrepresentadas nos estudos de associação é alvo de grande importância neste campo de pesquisa.

Nesse contexto, o mapeamento por miscigenação emerge como uma importante alternativa aos estudos de associação tradicionais, pois busca identificar regiões genômicas de ancestralidades definidas associadas a fenótipos complexos (inclusive doenças) (Winkler *et al.*, 2010).

Aplicando-se esse método, Scliar *et al.* (2021) identificou 6 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms* ou Polimorfismos de Nucleotídeo Único, em português) candidatos à associação com o IMC, sendo o SNP rs114066381 (G > A - alelo selvagem > alelo variante) o de maior tamanho de efeito e com efeito específico em mulheres miscigenadas. Porém, esse resultado foi calculado a partir de dados imputados (inferidos por ferramentas computacionais a partir de dados de genotipagem usando padrões haplotípicos em populações de referência), o que pode adicionar incertezas à associação.

A replicação dessa descoberta em novos estudos com dados genotipados poderia avaliar o enviesamento dessa associação, providenciar respaldo estatístico ou até mesmo melhorar a estimativa de tamanho de efeito (Kraft *et al.*, 2009).

Dessa forma, por meio deste trabalho, teve-se como objetivo investigar a associação de rs114066381 com o IMC descoberta por Scliar *et al.* (2021) por meio de dados genotipados em outra coorte independente; nesse caso, com fenótipos extremos (mulheres com obesidade mórbida).

Para isso, genotipamos por PCR (da sigla em inglês para Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real amostras de 234 pacientes com obesidade em tratamento no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais e comparamos a frequência alélica do alelo A do rs114066381 com dados das coortes de Bambuí e Pelotas do EPIGEN, coortes estudadas por Scliar *et al.* (2021). Dessa forma, buscamos contribuir para a discussão do papel desse SNP na obesidade na população miscigenada brasileira.

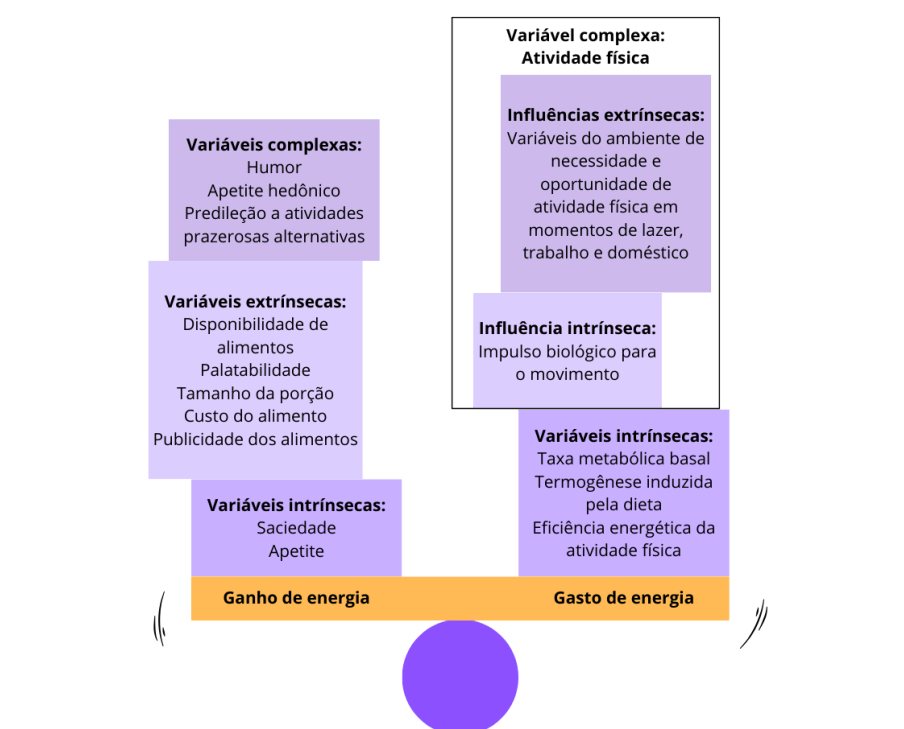
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Obesidade

A obesidade é caracterizada, de forma simplificada, como uma acumulação anormal de triglicérides nas células adiposas (O'Rahilly, 2009). Essa acumulação se origina de um desbalanço positivo persistente entre a absorção de energia e o seu dispêndio pelo organismo (Figura 1) (O'Rahilly, 2009; Filho, 2016).

Nos dois lados dessa equação estão presentes fatores intrínsecos e extrínsecos ao organismo, como sensações de saciedade, apetite, oferta de alimento, taxa metabólica basal e oportunidade de exercício físico (O'Rahilly, 2009). Outros fatores que influenciam esse diagnóstico são sedentarismo, alterações hormonais, aumento do consumo de calorias, mudanças psicocomportamentais e fatores genéticos (Filho, 2016).

Figura 1 - Fatores relacionados com a obesidade



Fonte: Adaptado de O'Rahilly *et al.* (2009).

O relevante impacto desse grave problema de saúde pública se demonstra pela sua predominância, mundial e nacional, pelos custos despendidos em seu

enfrentamento e por apresentar risco de desenvolvimento de outras doenças, como doenças cardiovasculares, diabetes/insuficiência renal (em associação ao sobrepeso) ou cânceres relacionados à obesidade (Flegal *et al.*, 2007). Esse problema é especialmente importante para os países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos, em que o gasto em serviços públicos de saúde tende a ser menor.

De acordo com a colaboração *NCD Risk Factor* (2016), a prevalência de indivíduos com obesidade em todo o mundo aumentou no período de 1975 para 2014 de 3,2% para 10,8% em homens e 6,4% para 14,9% em mulheres. Infelizmente, essa tendência se mantém para os próximos anos. Segundo o Atlas Mundial da Obesidade de 2023, 988 milhões de pessoas tiveram obesidade em 2020 mundialmente e, de acordo com uma estimativa de aumento de casos nos próximos anos, 1,25 bilhão de pessoas devem apresentar a doença em 2035 e, em 2040, 1,91 bilhão devem ser classificadas neste quadro (Federação Mundial da Obesidade, 2023).

Em termos globais, o Brasil se situa na primeira metade dos países com maior prevalência de obesidade, situando-se na 94^a posição considerando-se somente o público masculino e 86^a posição considerando-se unicamente o público feminino (Abarca-Gómez *et al.*, 2017). Além disso, no contexto brasileiro, 26,4% das mulheres adultas e 19,2% dos homens adultos se enquadraram no quadro de obesidade no ano de 2016 (Abarca-Gómez *et al.*, 2017).

De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde de 2019 (PNS-2019), 60,3% (IC₉₅=58,2%-62,40%) da população brasileira apresentaram excesso de peso (IMC entre 25 kg/m² e 30 kg/m²), enquanto 25,90% (IC₉₅=22,50%-29,30%) apresentaram obesidade neste ano (IMC>30kg/m²). Diferenças significativas foram observadas de acordo com o sexo biológico do indivíduo, sendo mais prevalente nas mulheres (29,50%, IC₉₅=25,10%-34,00%) que nos homens (21,80%, IC₉₅=18,60%-25,00%). Essa discrepância também foi observada em relação à etnia, sendo a população negra mais suscetível à obesidade, com porcentagem de indivíduos obesos de 30,90% (IC₉₅=22,00%-39,90%). Enquanto isso, a porcentagem de indivíduos brancos obesos foi de 27,00% (IC₉₅=23,40%-30,60%) e de indivíduos pardos foi de

23,80% (IC₉₅=19,90%-27,70%) (Ministério da Saúde & Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019).

Segundo previsões para 2020-2030, serão gastos, pelo Sistema Único de Saúde (SUS), cerca de R\$ 4,2 bilhões de reais em custos diretos e R\$ 45,5 bilhões com custos indiretos (perda de vida produtiva por mortalidade precoce) com as doenças crônicas não transmissíveis causadas pelo excesso de peso, caso a prevalência da obesidade na sociedade brasileira se tornar estável no período (Giannichi, 2023).

As estratégias de prevenção e tratamento da obesidade obedecem uma avaliação específica de cada paciente e vão desde modificações de dieta e inserção de exercício físico na rotina até a cirurgia bariátrica nos casos mais graves, passando por propostas farmacológicas como análogos a proteína GLP1, agonistas do receptor MC4R e administração de hormônios, como ocitocina e hormônio do crescimento (Faccioli *et al.*, 2023).

Nas últimas décadas, têm-se observado um aumento de casos de obesidade no mundo. Essa tendência está relacionada, em parte, com a presença de fatores obesogênicos (aumentam o risco de desenvolvimento da obesidade), como maior oferta e consumo de alimentos calóricos (Drewnowski *et al.*, 2004), menor tempo dedicado à atividade física (Church *et al.*, 2011), tempo de tela (Fang *et al.*, 2019) e até nível socioeconômico (Żukiewicz-Sobczak *et al.*, 2014).

Apesar disso, fatores genéticos desempenham um papel importante nesse contexto e muitas variantes relacionadas à fenótipos da obesidade foram identificadas até o momento por estudos genômicos de associação. Porém, grande parte da variação de fenótipos complexos da obesidade ainda não teve suas contrapartes genéticas elucidadas, evidenciando-se um campo de descoberta de novas variantes genéticas relacionadas à obesidade (Jung *et al.*, 2023).

Dentre os numerosos métodos de avaliação de obesidade, destacam-se os antropométricos, que incluem o Índice de Massa Corporal (IMC ou BMI, da sigla em inglês para *Body Mass Index*), a circunferência da cintura e a razão cintura-quadril (WHR, da sigla em inglês para *Waist:Hip Ratio*). Definido pela equação (1), o IMC é uma medida útil de obesidade e facilmente empregada, pois depende apenas da

medição do peso do indivíduo (m) e de sua altura (h) (medições já solidamente aplicadas na rotina clínica), sendo expresso em kg/m^2 (OMS, 2000a).

$$IMC = \frac{m}{h^2} \quad (1)$$

A partir do valor obtido pela expressão acima (1), é possível classificar indivíduos em 5 classes (Tabela 1). A partir de $30 kg/m^2$, os indivíduos com obesidade e alta propensão a comorbidades podem ser identificados e intervenções podem ser aplicadas individualmente (OMS, 2000a).

Tabela 1 - Classificação de indivíduos adultos de acordo com o IMC

Classificação	IMC	Risco de comorbidades
Abaixo do peso	<18,50	Baixo
Peso ideal	18,50 - 24,99	Mediano
Sobrepeso	25,00 - 29,99	Aumentado
Obesidade classe I	30,00 - 34,99	Moderado
Obesidade classe II	35,00 - 39,99	Grave
Obesidade classe III	>= 40,00	Muito grave

Fonte: OMS (2000a).

A variável IMC possui algumas limitações, como a variação da relação IMC-gordura corporal por população ou composição e proporção corporais, que podem alterar a faixa de valores considerada saudável (OMS, 2000a). Diferentes populações possuem diferentes composições corporais de massas magra e gorda e, conseqüentemente, podem não se adequar da melhor forma à classificação proposta pela OMS (Swinburn *et al.*, 1996; OMS, 2000b).

Porém, apesar de suas limitações, a variável IMC oferece facilidade de aplicação na prática clínica e, portanto, permite a comparação intra e inter-populacional de forma mais simplificada que outras técnicas mais custosas e complexas. No contexto do presente estudo, como o IMC é bastante utilizado em estudos genéticos sobre a obesidade, o uso dessa variável permitiu a comparação

de resultados com outros coortes e uma melhor compreensão das diferenças na arquitetura genética desta doença entre populações.

2.2. Arquitetura genética da obesidade

Alguns estudos que consideraram variáveis antropométricas da obesidade indicaram alta herdabilidade desse fenótipo, configurando entre o intervalo de 40-70% (Stunkard *et al.*, 1986; Wardle *et al.*, 2008; Malis *et al.*, 2005; Moll *et al.*, 1991; Rose *et al.* 1998). A genética da obesidade envolve as formas monogênica síndrômica, a monogênica não-síndrômica e a poligênica.

A forma monogênica síndrômica da obesidade possui prevalência rara e apresenta sintomas frequentes como deficiência intelectual, características dismórficas além de anomalias de certos órgãos além da obesidade em si, que comumente se apresenta na infância (Pigeyre *et al.*, 2016). Segundo Kaur *et al.* (2017), até novembro de 2016, foram descritas 79 síndromes associadas à obesidade pela literatura sendo a obesidade um dos principais sintomas em 69,6% deles e, em 22 delas ainda não foram identificadas regiões cromossômicas ou gene(s) relacionado(s). Os sintomas de cada síndrome, assim como o tipo de herança, os prováveis genes causais ou regiões cromossômicas envolvidas, caso elucidados, estão relacionados nos Anexos A e B.

Os genes envolvidos na forma monogênica não síndrômica da obesidade participam da via de sinalização da leptina de controle do apetite ou são importantes para o desenvolvimento e plasticidade sináptica dos neurônios envolvidos nessa via, como os genes *LEP*, *LEPR*, *PCSK1*, *POMC*, *MC4R*, *SIM1*, *NTRK2*, *BDNF*, *SH2B1*, *MRAP2*, *KSR2* e *ADCY3* (Anexo C). Outras vias relacionadas com a obesidade são a via da insulina e outras adipocinas além da leptina, como a lipocalina 2, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a resistina, a interleucina 6 (IL-6) e adiponectina (Kojta *et al.*, 2020), via do hormônio do crescimento (Hjelholt *et al.*, 2020), a via do sistema endocanabinoide (Vasincu *et al.*, 2023) e a via da adiponectina (Ghoshal & Bhattacharyya, 2015).

No caso da obesidade poligênica, os estudos de busca por genes candidatos nos anos 90 levaram à descoberta de centenas de possíveis genes relacionados com obesidade; porém, somente variantes de seis genes (*ADRB3*, *BDNF*, *CNR1*, *MC4R*, *PCSK1*, *PPARG*), sendo alguns deles envolvidos na via da leptina, apresentaram associação reprodutível (Loos; Yeo, 2021). Por outro lado, no caso de estudos de ligação gênica, poucos *loci* tiveram sua associação replicada; porém, ainda não tiveram o gene causal identificado (Rankinen *et al.*, 2006; Loos & Yeo, 2021).

Quanto aos GWAS, até 2021, foram identificados 3940 SNPs associados com fenótipos relacionados com obesidade distribuídos por 1139 *loci*. Porém, nem todos passaram por estudos funcionais (Loos & Yeo, 2021). Uma das primeiras regiões cromossômicas associadas ao IMC identificados por GWAS foi a região 16q12.2, onde está localizado o gene *FTO* (*Fat Mass and Obesity-associated*) e mais cinco genes (*FTS*, *RPGRIP1L*, *IRX3*, *IRX5* e *IRX6*). As variantes dessa região fortemente associadas à obesidade se concentram no primeiro íntron do gene *FTO*. A variante do SNP rs9939609, por exemplo, chega a corresponder a aproximadamente 1% da variância do IMC (Frayling *et al.*, 2007).

Estudos com camundongos sugerem que o gene *FTO* está diretamente relacionado com a obesidade, pois camundongos transgênicos com superexpressão de *FTO* apresentaram aumento do peso e gordura corporais. Por outro lado, indivíduos deficientes do gene apresentaram fenótipo magro (Church *et al.*, 2010; Fischer *et al.*, 2009). Em humanos, Karra *et al.* (2013) demonstrou que o genótipo do SNP rs9939609 influencia a resposta neuronal ao hormônio acil grelina em regiões cerebrais importantes para regulação do apetite, mecanismo de recompensa e motivação.

Outro possível mecanismo, também descoberto em camundongos, é a regulação da transcrição do primeiro gene *upstream* a *FTO*, *RPGRIP1L*, através do sítio regulatório AATAAATA presente no primeiro íntron do gene *FTO*. A variante rs8050136, presente nesse possível acentuador, diminui a afinidade à isoforma P110 do fator de transcrição CUX1, resultando em menor expressão de ambos, menor tráfego do receptor de leptina para o cílio e, conseqüentemente, menor sensibilidade à leptina (Stratigopoulos *et al.*, 2010).

Além disso, outro estudo indica que a porção intrônica do gene *FTO* pode influenciar na expressão do gene *IRX3* em humanos e este último pode estar relacionado com o efeito da obesidade observado no *locus*, dado que camundongos alterados geneticamente deficientes do gene *IRX3* apresentaram perda de gordura corporal e escurecimento do tecido adiposo branco (Smemo *et al.*, 2014). Nesse contexto, o estudo da variante rs1421085 na região intrônica do gene *FTO* revelou a presença de um sítio conservado de ligação do repressor transcricional ARID5B. Indivíduos portadores do alelo de risco que altera o *motif* apresentaram expressão duplicada dos genes *IRX3* e *IRX5*, diferenciação de pré-adipócitos em tecido adiposo branco e maior armazenamento lipídico (Claussnitzer *et al.*, 2015). Em estudo mais completo, Sobreira *et al.* (2021) demonstram pleiotropismo e heterogeneidade alélica dessa região cromossômica através de sua interação com os genes *IRX3* e *IRX5*.

Após esses estudos iniciais sobre o gene *FTO*, poucos *loci* relacionados a obesidade identificados por GWAS foram verificados por estudos funcionais, como 1) *downstream* ao gene *TMEM18*; 2) *upstream* a *CADM1*; 3) dentro do gene *CADM2* e 4) *upstream* ao gene *NEGR1*.

O gene *TMEM18*, nunca antes associado à obesidade, teve sua superexpressão no hipotálamo relacionada à perda de peso e seu nocaute relacionado ao ganho de peso em camundongos (Larder *et al.*, 2017).

Os genes *CADM1* e *CADM2* codificam proteínas envolvidas na adesão celular em regiões sinápticas (Biederer *et al.*, 2002). Rathjen *et al.* (2017) demonstraram, em modelo animal, que a expressão aumentada de *CADM1* de 2-3 vezes no hipotálamo levou à obesidade através do menor consumo de energia. Ademais, camundongos obesos deficientes do gene *CADM2* tiveram menor adiposidade, glicose sistêmica reduzida e maior sensibilidade à leptina (Yan *et al.*, 2018).

Por fim, o gene *NEGR1* possui a mesma função que os dois genes anteriores e seu aumento da expressão por deleções de ~10kb e ~45 kb no *locus upstream* (alterações relacionadas à obesidade) sugerem sítio conservado de interação com o repressor transcricional NKX6.1 (Willer *et al.*, 2008; Wheeler *et al.*, 2013).

Outras variantes do tipo CNV (*Copy Number Variants*) associadas com IMC são a deleção de ~21 kb *upstream* a *GPRC5B* (Speliotes *et al.*, 2010), envolvido na

inflamação do tecido adiposo (Kim *et al.*, 2012); no gene *PPYR1*, também chamado de *NPY4R* (Jarick *et al.*, 2010), receptor 1 de polipeptídeos pancreáticos conhecido por inibir o consumo de alimentos, e o CNV multialélico que envolve *AMY1A*, gene da α -amilase (Falchi *et al.*, 2014).

Estudos de sequenciamento de exomas e varredura de exomas permitem identificar variantes raras (MAF < 1%) ou de baixa frequência (MAF: 1-5 %). Em um dos maiores estudos da área, no caso, com um pouco mais de 640.000 indivíduos do Reino Unido, Estados Unidos e México, foram identificados variantes raras não sinônimas (algumas com efeito protetivo) associadas ao IMC em 16 genes, sendo que 2 deles já eram reconhecidos por sua atuação na forma monogênica da obesidade (*MC4R* e *PCSK1*) e 5 deles codificantes de receptores acoplados à proteína G expressos no cérebro (*CALCR*, *GIPR*, *GPR151*, *GPR75* e *MC4R*) (Akbari *et al.*, 2021).

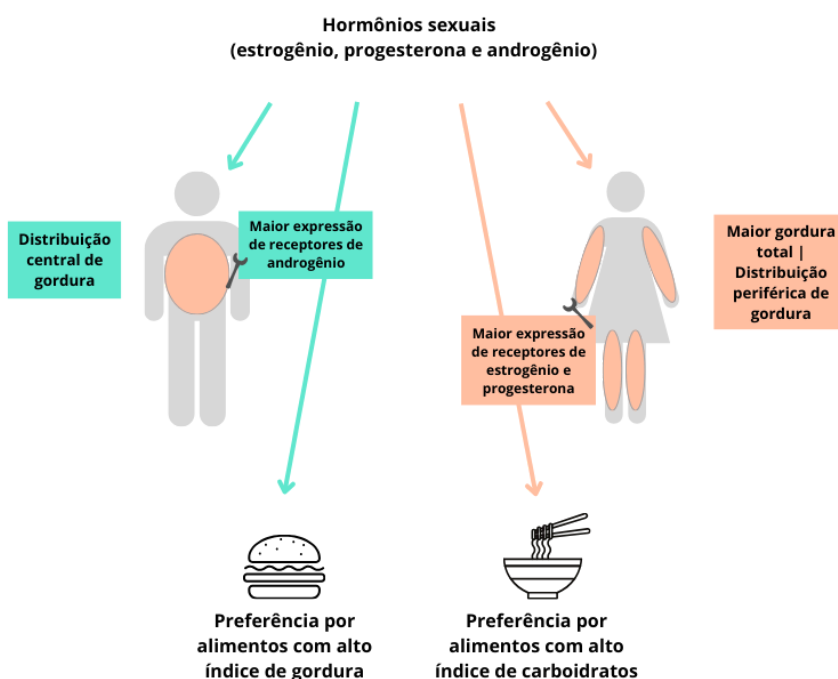
Nesse ínterim, Kaisinger *et al.* (2023) identificaram variantes raras associadas à obesidade específicas por sexo biológico e idade após estudos de sequenciamento genômico de exomas com aproximadamente 420.000 indivíduos. Segundo esse estudo, variantes raras em 5 genes foram associadas ao IMC em mulheres (*DIDO1*, *KIAA1109*, *MC4R*, *PTPRG* e *SLC12A5*) e em 2 genes estavam associadas ao IMC em homens (*MC4R* e *SLTM*), sendo que estudos anteriores indicaram variantes do gene *SLTM* relacionadas com IMC em mulheres. Através de evidências de estudos anteriores em modelos animais, Kaisinger *et al.* (2023) propõe que o gene *DIDO1* seja importante para a renovação das células neuronais do hipotálamo através de sua função anti-apoptótica.

2.3. Ancestralidade, sexo e obesidade

Diferenças de prevalência de obesidade na população adulta de acordo com o sexo biológico já são conhecidas em vários países (Abarca-Gómez *et al.*, 2017; Jaacks *et al.*, 2019). Dentre eles, encontra-se o Brasil, em que a porcentagem de mulheres com obesidade sobressai em aproximadamente 35% a porcentagem de homens com obesidade em 2019 (Ministério da Saúde & Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019).

Homens e mulheres apresentam diferenças na distribuição da gordura corporal: enquanto homens apresentam tendência central de distribuição do tecido adiposo (distribuição central/androide), na região abdominal, as mulheres possuem tendência periférica de distribuição da gordura corporal (distribuição periférica/ginoide), principalmente em braços, perna e quadris (Figura 2). Mulheres também demonstram maior porcentagem de massa gorda total em comparação com homens (Garaulet *et al.*, 2000; Krotkiewski *et al.*, 1983).

Figura 2 - Diferenças de composição corporal, hábitos alimentares e expressão de receptores de hormônios sexuais entre gêneros



Fonte: Adaptado de Muscogiuri *et al.* (2023).

Essas diferenças podem estar relacionadas aos hormônios sexuais já que os receptores desses hormônios são expressos diferencialmente por tipo de tecido adiposo: receptores de estrogênio e progesterona são mais expressos no tecido adiposo subcutâneo que no tecido adiposo visceral e neste último, os receptores de testosterona são mais expressos (Chang *et al.*, 2018).

Em mulheres, níveis altos de estrogênio estão associados com a regulação negativa da expressão dos receptores de testosterona no tecido adiposo

subcutâneo, resultando em uma maior tendência a acúmulo de gordura nessa região (Richelsen, 1986; Pedersen *et al.*, 2004). Outros fatores incluem a associação de maior concentração de leptina em mulheres (aproximadamente 4x) e maior tamanho celular dos adipócitos e maior tamanho de gordura subcutânea (Garaulet *et al.*, 2000).

Kroll *et al.* (2020) resume trabalhos que indicam características cerebrais relacionadas à obesidade distintas entre os sexos, como funcionais, estruturais e químicas no sistema de recompensa.

Outros fatores correlacionados à maior incidência da obesidade no público feminino são questões socioculturais, como desestímulo à atividade física pelo matrimônio, cultura ou religião (Lemamsha *et al.*, 2019; Benjamin & Donnelly, 2013), percepção de estresse e comportamento alimentar associado ao estresse (Udo *et al.*, 2014), desigualdade de gênero (Wells *et al.*, 2012), estado civil e sociabilidade (Hosseini *et al.*, 2020).

Quanto à relação obesidade e ancestralidade, considerando-se os dois sexos, a prevalência da obesidade em indivíduos adultos foi maior em afroamericanos que em indivíduos brancos em 2003-2004 (Ogden *et al.*, 2006). Outros estudos demonstraram maior gordura visceral abdominal e menor gordura subcutânea em indivíduos brancos que negros independentemente do gênero (Katzmarzyk *et al.*, 2009; Carroll *et al.*, 2008).

2.4. Mapeamento por miscigenação (*Admixture-Mapping*)

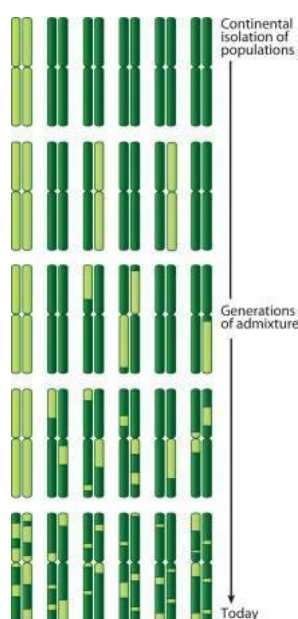
2.4.1. Estrutura genética das populações

Desde que a espécie humana moderna se originou há aproximadamente 200.000 anos na África subsaariana e se espalhou pelo mundo há 70.000 anos atrás (Veeramah & Hammer, 2014), as populações de cada continente se tornaram distintas geneticamente devido à distância geográfica (Rosenberg, 2002).

Com o processo de colonização das Américas, houve um fluxo gênico entre essas populações humanas que, devido ao *crossover*, levou à formação de mosaicos de ancestralidade na população miscigenada, ou seja, a população

miscigenada é portadora de cromossomos formados por segmentos ancestrais das populações parentais. Ademais, esses segmentos de ancestralidade diminuem de comprimento de acordo com o avanço das gerações da população miscigenada, conforme a Figura 3 (Winkler *et al.*, 2010).

Figura 3 - Encurtamento dos segmentos cromossômicos de ancestralidade com o decorrer das gerações da população miscigenada. No esquema, os tons de verde correspondem às ancestralidades de duas populações parentais distintas



Fonte: Winkler *et al.* (2010).

Esses segmentos de ancestralidade carregam variantes que podem possuir frequências muito diferentes nas populações parentais sendo, algumas delas, relacionadas ao risco a doenças. Entretanto, apesar da problemática ser conhecida, a população europeia é super-representada nos estudos de associação de doenças e variantes genéticas (Martin *et al.*, 2019).

Portanto, técnicas que possam descobrir variantes relacionadas a fenótipos de interesse em populações não europeias e principalmente miscigenadas, formadas pela troca gênica entre duas ou mais populações, são necessárias. O mapeamento por miscigenação é uma técnica de associação de regiões genômicas relacionadas à ancestralidade com fenótipos de estudo em populações

miscigenadas como o Brasil, cujo arcabouço genético teve a contribuição de três populações parentais: europeia, africana e nativa.

2.4.2. O método de mapeamento por miscigenação (*Admixture Mapping*)

A técnica de *Admixture Mapping*, também conhecido como “mapeamento por miscigenação em desequilíbrio de ligação” (*mapping by admixture linkage disequilibrium*, do termo em inglês), é um método de mapeamento de genes em populações miscigenadas que busca identificar regiões genômicas relacionadas com doenças ou fenótipos de interesse que possuem, localmente, maior proporção de ancestralidade por parte de alguma das populações parentais (Winkler *et al.*, 2010).

O uso de características genéticas populacionais, como por exemplo o desequilíbrio de ligação (*linkage disequilibrium* (LD), do termo em inglês), para localização de genes relacionados a doenças ou traços fenotípicos específicos ou mais prevalentes em certas populações humanas remonta ao estudo de Rife (1954) e Chakraborty & Weiss (1988). Porém, somente nos anos 90 começaram a surgir estudos reportando métodos estatísticos avançados baseados na associação entre marcadores alélicos e traços fenotípicos como estratégia de descoberta de genes herdados em conjunto (Briscoe *et al.*, (1994); McKeigue, 1997; Stephens *et al.*, 1994).

Os marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) são marcadores moleculares com frequências alélicas distintas em populações diferentes. Apesar de diferentes tipos de marcadores poderem ser aplicados, os mais comumente usados são os SNPs por sua quantidade e boa distribuição pelo genoma e fácil genotipagem (Winkler *et al.*, 2010).

O termo mapeamento por miscigenação (*admixture mapping*) foi criado por McKeigue (1998), no qual se propôs a associação entre fenótipos de interesse e a ancestralidade local cromossomal, utilizando como variável associada a ancestralidade o número de cópias alélicas herdadas de uma determinada ancestralidade (0, 1 ou 2) em cada região do genoma, variável aplicada atualmente em muitos estudos de associação.

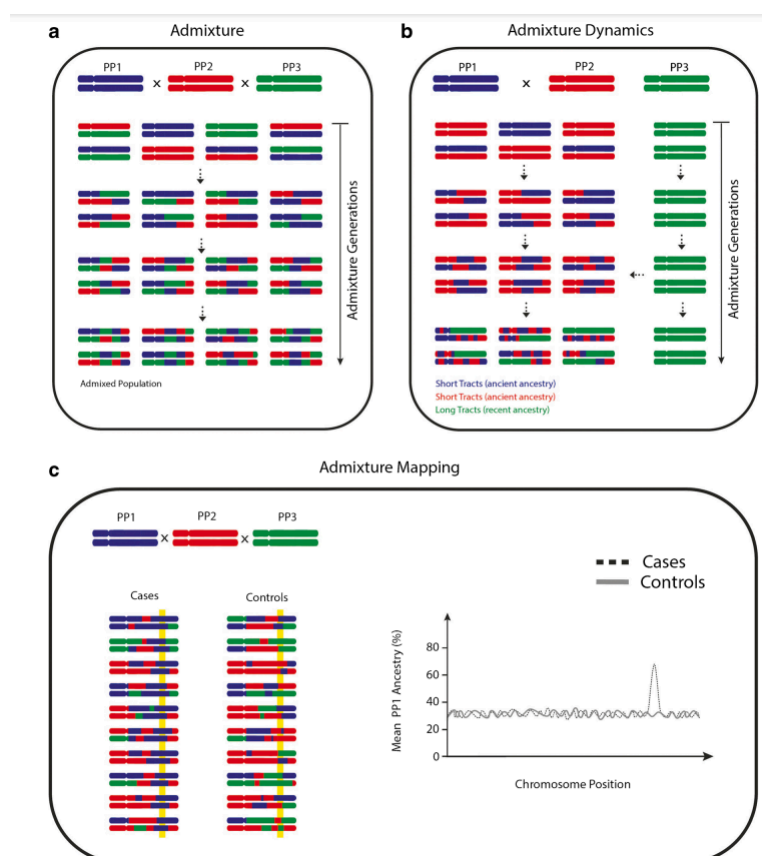
Além da adequabilidade para estudo de variantes genéticas em populações miscigenadas, o mapeamento por miscigenação oferece menor penalização e maior poder estatísticos ao manusear informações de segmentos cromossômicos de ancestralidade ao invés de SNPs, aplicado em estudos genômicos de associação (Suarez-Pajes *et al.*, 2021).

Existem dois tipos de testes estatísticos no contexto do mapeamento por miscigenação: os testes de caso-controle e os de caso. O primeiro consiste na comparação da ancestralidade de pequenos trechos cromossômicos entre os genomas dos indivíduos do grupo controle e indivíduos do grupo caso para a identificação de trechos em que essa ancestralidade é significativamente diferente. Na segunda situação, em que analisa-se somente o genoma de indivíduos que apresentam o fenótipo de interesse, essas regiões são descobertas pela comparação da ancestralidade de cada trecho do genoma com a média de cada ancestralidade por todo o genoma.

Ao se utilizar somente casos, algumas suposições são feitas, como a de que não há diferença sistemática de ancestralidade entre caso e controles, não existem efeitos inesperados devido à segmentação populacional e que o controle contribui somente com ruído para o cálculo das frequências alélicas das populações ancestrais. Por esse motivo, o teste caso-controle se apresenta como uma opção mais robusta, já que não requer suposições (Shriner, 2013).

A principal suposição do mapeamento por miscigenação é a de que o alelo relacionado ao fenótipo de interesse possui frequências significativamente distintas nas populações parentais da população miscigenada em estudo, sendo que a maior frequência ocorre na população parental em que o fenótipo alterado manifesta-se em maior grau. Dessa maneira, ao analisarem-se regiões genômicas de indivíduos que apresentam o fenótipo alterado, aquelas que apresentam maior proporção de ancestralidade da população associada a esse fenótipo são fortes candidatas a regiões associadas a esse fenótipo (Figura 4c) (Zhu *et al.*, 2008).

Figura 4 Esquema representativo do processo de miscigenação a nível cromossômico (a e b) e do mapeamento por miscigenação em estudos do tipo caso-controle (c). Cada cor representa a ancestralidade de uma população parental distinta. Em (c) à direita: gráfico da ancestralidade estimada da população parental 1 (azul) por posição cromossômica. Em (c), à esquerda: comparação entre os segmentos de ancestralidade da região em amarelo nos grupos caso e controle. Repare que a ancestralidade representada pela cor azul é substancialmente mais presente nessa região no grupo caso em relação ao grupo controle, sendo uma forte candidata à associação com o fenótipo em estudo



Fonte: Soares-Souza *et al.* (2018).

A partir de dados de genotipagem/imputação de um grupo de indivíduos, é possível inferir a ancestralidade de porções do cromossomo de cada indivíduo da população miscigenada testada comparando sua frequência alélica com a das populações parentais (Winkler *et al.*, 2010).

Em seguida, regiões de ancestralidade pronunciada na população de estudo têm sua associação com o fenótipo de interesse testada por métodos estatísticos equivalentes entre si. São eles o *Z score*, *LOD score* ou modelos de regressão (Winkler et al., 2010; Cardena, 2018).

O *Z score* pode ser calculado segundo a Equação 2 para estudos do tipo caso-controle e segundo a Equação 3 para estudos do tipo caso. Nessas equações, $p(t)$ corresponde à proporção esperada de certa ancestralidade em um *locus* t do cromossomo, $p(unl)$ corresponde à proporção da mesma ancestralidade em um *locus* não ligado ao *locus* candidato no grupo de casos, σ a variância associada à estimativa de proporção de ancestralidade. Os índices d e c indicam grupos casos e controle, respectivamente. (Zhu et al., 2008). Os intervalos de significância dessa estatística são $<-4,06$ ou $>4,06$ com valor de significância correspondente de 5×10^{-5} (Cheng et al., 2009).

$$Z_c(t) = \frac{(p_d(t) - p_d(unl)) - (p_c(t) - p_c(unl))}{\sigma(p_d(t) - p_c(t))} \quad (2)$$

$$Z_c(t) = \frac{p_d(t) - p_d(unl)}{\sigma(p_d(t))} \quad (3)$$

Outra estatística importante é o *LOD score* (do termo em inglês *Logarithm of the Odds score*), definido como o \log_{10} da razão entre a probabilidade dos dados considerando-se que o *locus* está associado ao fenótipo de estudo e a mesma probabilidade considerando-se nenhuma relação entre o fenótipo e os dados (Equação 4). O intervalo de significância dessa estatística compreende valores maiores que 2 após correção por repetição de testes por todo o genoma (Patterson et al., 2004).

$$LOD = \log_{10} \frac{P(\text{dados}|\text{caso})}{P(\text{dados}|\text{controle})} \quad (4)$$

Por último, a análise de regressão permite investigar a contribuição de possíveis fatores contribuidores para o efeito observado, como sexo, idade e nível socioeconômico.

Uma vez definidas as regiões cromossômicas candidatas à associação ao fenótipo de interesse, é realizada nova análise a fim de identificar, dentre as diversas variantes presentes nessa região, a variante causal, ou seja, a variante possivelmente responsável pelo efeito pronunciado da região. Para isso, é realizado o processo denominado de mapeamento fino (*fine-mapping*) (Cardena, 2018).

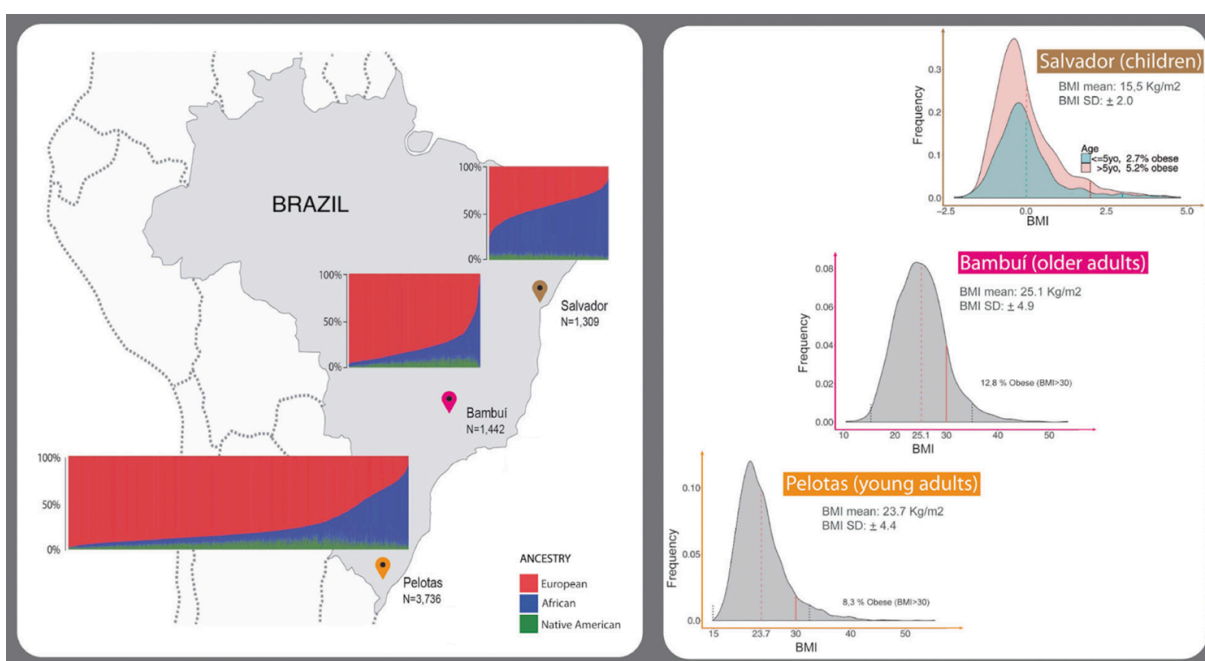
De modo a executar o mapeamento fino, é necessário grande densidade de SNPs nas regiões cromossômicas analisadas e, muito comumente, faz-se necessário realizar a imputação desses dados, ou seja, a inferência computacional do genótipo de variantes com base no padrão de desequilíbrio de ligação dessas variantes na população(ões) parental(is) (Howie *et al.*, 2011). Para isso, são utilizados bancos de dados de variantes por todo o genoma, sendo os públicos mais conhecidos os bancos dos projetos *1000 Genomes* (<https://www.internationalgenome.org/>), *International HapMap* (<https://www.genome.gov/10001688/international-hapmap-project>) e *Trans-Omics for Precision Medicine* (TOPMed) (<https://topmed.nhlbi.nih.gov/>). As ferramentas computacionais também são indispensáveis para realizar a inferência de SNPs com base nos bancos de dados acima e, dentre elas, o IMPUTE2 se destaca pela sua precisão e capacidade de reunir informações de vários painéis de referência (Howie *et al.*, 2009).

Várias ferramentas computacionais podem ser utilizadas para analisar a associação entre os SNPs da região candidata e o fenótipo de estudo. Essas podem fornecer métricas de associação como valor-p e nível de LD com o SNP associado ou, em caso de métodos bayesianos, probabilidades posteriores de causalidade de cada SNP (Spain & Barrett, 2015; Cardena, 2018).

2.4.3. A variante rs114066381 com efeito específico no IMC em mulheres de ancestralidade africana

Nesse contexto de busca de variantes genéticas relacionadas a fenótipos de interesse em populações miscigenadas, Scliar *et al.* (2021) identificaram 6 SNPs candidatos à associação com o IMC em três coortes brasileiras (Salvador, Bambuí e Pelotas) formadas por indivíduos de diferentes idades (crianças, idoso e adultos, respectivamente) (Figura 5).

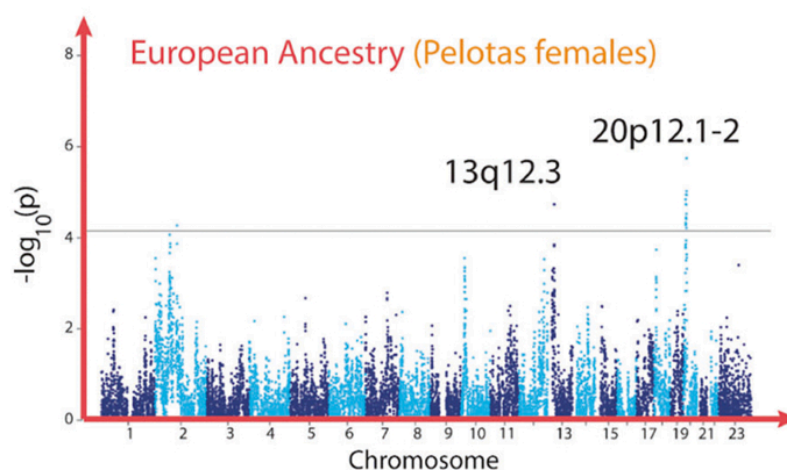
Figura 5 - Gráfico de barras de ancestralidade individual continental de cada coorte do EPIGEN (à esquerda) e histograma do IMC ajustado por sexo e idade de acordo com guia da OMS por coorte (à direita)



Fonte: Scliar *et al.* (2021).

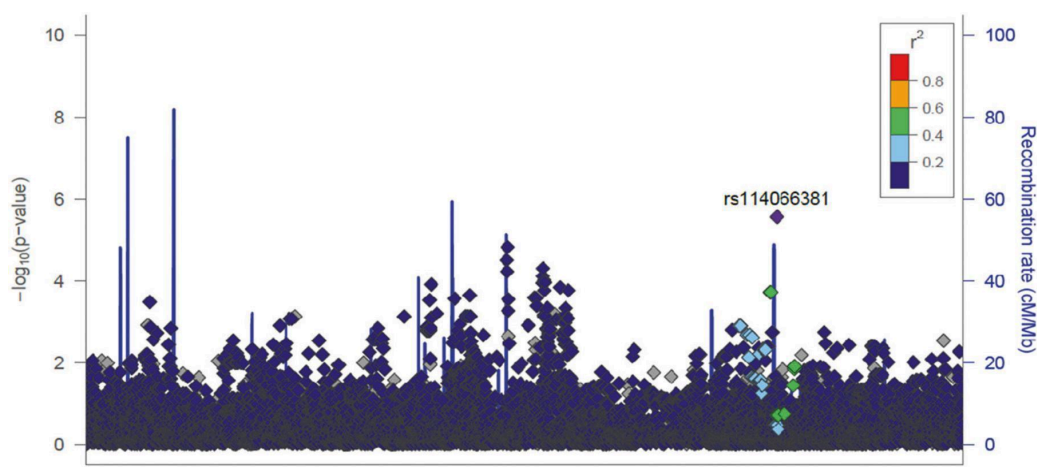
Dentre esses, destacou-se o SNP rs114066381 (G>A), que apresentou grande tamanho de efeito, relação específica em mulheres e está associado negativamente com a ancestralidade europeia (Figuras 6 e 7). Identificado através de dados imputados na coorte de Pelotas, esse SNP demonstrou forte efeito com $\beta=3,99 \pm 0,84 \text{ kg/m}^2$ por alelo (95% CI: 2,32-5,65) e valor $p = 2,76 \times 10^{-6}$.

Figura 6 - Gráfico Manhattan dos resultados de mapeamento por miscigenação em mulheres da coorte de Pelotas para a ancestralidade europeia. Observou-se, através da análise de regressão linear, que a ancestralidade europeia estava negativamente relacionada ao IMC na região cromossômica 13q12.3 de ~119 kb de tamanho, com contribuição de -0,95 unidades de IMC para cada cópia de ancestralidade



Fonte: Scliar *et al.* (2021).

Figura 7 - Gráfico dos resultados de mapeamento fino da região cromossômica 13q12.3 para a ancestralidade europeia em mulheres feito pelo programa LocusZoom. O desequilíbrio de ligação entre o SNP rs114066381 e seus vizinhos está representado pelos valores de r^2 esquematizados por cores (canto superior à direita) de acordo com dados da população africana do projeto 1000 Genomes



Fonte: Scliar *et al.* (2021).

Essa associação foi replicada em outras coortes como a coorte de dados genotipados do projeto SABE (São Paulo), seja unicamente ou em conjunto com a coorte de Bambuí do EPIGEN (Tabela 2). Também foi possível replicar esse resultado em coortes de populações miscigenadas em conjunto (Pelotas, Bambuí, São Paulo, Salvador e Porto Rico), com tamanho de efeito de 1,74 kg/m² e IC₉₅=(0,61-2,88) e em coortes de populações africanas em conjunto com populações miscigenadas (além das já mencionadas, Soweto, Nigéria, Camarões, Sudão, Etiópia, Quênia, Tanzânia e Botsuana), com tamanho de efeito mais modesto porém ainda significativo de 0,59 e IC₉₅=(0,01-1,18). As coortes de cidades como Bambuí, Salvador, Porto Rico, Soweto e as populações dos países africanos previamente mencionados em conjunto não replicaram a associação (Scliar *et al.*, 2021).

Tabela 2 - Associação de rs114066381-A com o IMC em mulheres não aparentadas de Pelotas e replicações em outras coortes de mulheres não aparentadas

Coorte	N	Idade	Coefficiente da regressão	Valor p	Poder estatístico
Pelotas	1795	23	3,99	2,76e-06	-
Bambuí	516	60-93	2,93	0,26	39%
Bambuí (aparentadas usando matriz de parentesco)	821	60-93	2,64	0,25	53%
São Paulo	651	59-99	3,34	3,26e-03	89%
Bambuí+São Paulo	1173	59-99	3,55	1,91e-04	99%
Salvador	664	4-11	-0,24	0,53	9%
Porto Rico	1082	21-89	1,30	0,50	13%
Populações africanas	1103	17-97	-0,57	0,47	9%
Soweto	859	39-60	2,39	0,75	69%

Fonte: Adaptado de Scliar *et al.* (2021).

Como a relação do SNP rs114066381G>A com fenótipos relacionados à obesidade (no caso, aumento de IMC) em mulheres heterozigotas não aparentadas e com alta ancestralidade africana não tinha sido observada em estudos anteriores a Scliar *et al.* (2021), novos estudos que busquem investigar a frequência dessa

variante em mulheres com obesidade são necessários para investigar sua associação. Além disso, realizar esses estudos com dados genotipados pode aumentar a validade dessa análise e incentivar futuros estudos funcionais.

2.5. Descrição das coortes

A coorte principal desse estudo, com a qual os estudos de genotipagem foram realizados, é formada por mulheres de 18 a 70 anos em tratamento nutricional por obesidade extrema pela Equipe para o Tratamento Nutricional da Obesidade (ETNO) do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e pelo Hospital Santa Casa de Belo Horizonte (BH). Essas pacientes apresentam indicação de cirurgia bariátrica e são acompanhadas no pré e pós operatório por variáveis como peso corporal, composição corporal (massa gorda e massa magra) e presença de comorbidades.

As coortes analisadas por Scliar *et al.* (2021) pertencem ao projeto EPIGEN-Brasil, que buscou explorar a relação de variantes da população miscigenada brasileira com fenótipos complexos e, para isso, realizou-se a genotipagem de 6487 indivíduos e o sequenciamento de 30 indivíduos de três cidades brasileiras: Salvador, Bambuí e Pelotas (<https://epigen.grude.ufmg.br/>).

O projeto SABE (Saúde, Bem-estar e Envelhecimento) é um estudo longitudinal multi-coorte realizado em 7 centros urbanos da América Latina e Caribe para investigar a saúde de idosos nessas regiões. No Brasil, idosos de 60 a 64 anos da cidade de São Paulo participaram da coleta de dados em três momentos distintos, 2000, 2006 e 2010, nos quais dados de questionários / antropométricos e sangue foram coletados (Lebrão *et al.*, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar a associação entre a variante genética rs114066381G>A e a obesidade em mulheres brasileiras com ancestralidade africana reportada em Scliar *et al.* (2021).

3.2 Objetivos Específicos

- 1) Extrair DNA de amostras de saliva de pacientes mulheres com obesidade extrema do HC e da Santa Casa.
- 2) Genotipar DNA de pacientes com obesidade extrema para o rs114066381 por PCR em tempo real.
- 3) Calcular a frequência genotípica de indivíduos G/A e A/A para o rs114066381 na coorte de BH (mulheres com obesidade em tratamento) e a frequência alélica do alelo selvagem G e o alelo A nas coortes de estudo.
- 4) Realizar teste exato de Fisher a partir da frequência alélica de mulheres com obesidade em tratamento da coorte de BH e mulheres de IMC < 25 kg/m² das coortes de Bambuí e Pelotas do EPIGEN.
- 5) Explorar possíveis vias de sinalização e mecanismos moleculares envolvidos na associação entre a variante rs114066381 e a obesidade, utilizando abordagens bioinformáticas.

4. METODOLOGIA

4.1. Comitê de Ética e Desenho Experimental

Foram cedidas 343 amostras biológicas pela Prof^a Dr^a Jacqueline Isaura Alvarez Leite, chefe do Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABIN) do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Essas amostras foram coletadas por um projeto desenvolvido pela Prof^a Jacqueline com aprovação do Comitê de Ética pela Plataforma Brasil sob o CAAE 75415317.8.1001.5149. Os pacientes, em sua maioria mulheres com obesidade, foram convidadas a participar e assinar o Termo de Consentimento. Os critérios de inclusão foram realização de cirurgia bariátrica Roux-en-Y em *bypass* gástrico no Hospital das Clínicas da UFMG do Sistema Único de Saúde. Os critérios de exclusão foram o surgimento de doenças metabólicas/inflamatórias ou alterações importantes de hábitos alimentares e de ingestão do suplemento avaliado no estudo,

consumo diário do produto de intervenção menor que 80% por mais de 2 dias por semana.

4.2. Coleta de Células Bucais

As amostras foram coletadas das pacientes por *swab* bucal de forma padronizada (raspagem por 2 minutos). Após a raspagem, a ponta de algodão dos *swabs* foi cortada e colocada em um microtubo de 1,5 mL de solução conservante TE (Tris-EDTA) [17 mM Tris/HCl (pH 8,0), 50 mM NaCl e 7 mM EDTA diluído em 66% de etanol] e a solução foi congelada a -8 °C até o momento da extração do DNA.

4.3. Extração e Quantificação de Amostras de DNA

A extração do DNA genômico a partir das células bucais coletadas em *swab* (228 amostras) foi realizada com o kit comercial *Puregene* de acordo com as instruções do fabricante (Qiagen) (Anexo D) ou de acordo com protocolo padronizado pelo laboratório da Prof^a Jacqueline Alvarez Leite por sua equipe (117 amostras) (Anexo E). O DNA genômico foi quantificado no Nanodrop, utilizando 1-2 µL de DNA, observando-se as razões de absorbância 260nm/280nm e 260nm/230nm e a solução de eluição adequada.

4.4. Genotipagem

A genotipagem do SNP rs114066381 foi realizada por PCR em tempo real, com o kit customizado *TaqMan SNP Genotyping Assay* (ID ANXHCNC, Thermo Fisher) e termociclador CFX Opus 96, da Bio-Rad. O *Reaction Mix* utilizado foi o *iTaq Universal Probes Reaction Mix*, da Bio-Rad. Todos os ensaios foram realizados em placa de 96 poços, com volume final de reação de 10 µL, sendo 3 ng de DNA (no mínimo) em volume de 1,5 µL, 5 µL de *Reaction Mix* e 0,5 µL da solução sonda/primers específicos para os alelos estudados e 3 µL de H₂O. Para algumas

amostras, conforme a disponibilidade de DNA, volumes menores que 1,5 μ L de DNA diluído foram adicionados obedecendo-se sempre a quantidade mínima proposta pelo fabricante de DNA de 3 ng para a reação. As condições de termociclagem utilizadas seguiram as recomendações do fabricante (Tabela 3).

Tabela 3 - Condições de PCR utilizadas para a genotipagem dos indivíduos referente ao SNP rs114066381

Ativação da Taq DNA Polimerase	Amplificação (40 ciclos)	
	Desnaturação	Anelamento/ Extensão
95 °C - 3 min	95 °C - 15 s	60 °C - 30 s

Fonte: Protocolo *iTaq Universal Probes One-Step Kit*, da Bio-Rad.

A sequência dos primers e sondas utilizados neste trabalho, obtidos no kit customizado *TaqMan SNP Genotyping Assay* (ID ANXHCNC, Thermo Fisher) é apresentada na Tabela 4. A concentração de primers e sondas no volume de reação foi de 1,8 μ M e 400 nM, respectivamente, conforme proposto pelo fabricante. Foi utilizado o *quencher* NFQ e as sondas VIC e FAM.

Tabela 4 - Sequência 5'-3' dos primers e das sondas do kit customizado *TaqMan SNP Genotyping Assay* (ID ANXHCNC)

Elemento	Sequência 5'-3'
Primer direto	TGTTTTGTTTTTCAGAGTCAAGAAAACCTT
Primer reverso	CACTCCAAATTTTTCTCATGGAAATGTACT
Sonda 1 - VIC (G)	TTTGCAGCGTTTATCA
Sonda 2 - FAM (A)	TTTGCAGCATTATCA

Fonte: *TaqMan SNP Genotyping Assay* (ID ANXHCNC, Thermo Fisher).

4.5. Teste estatístico

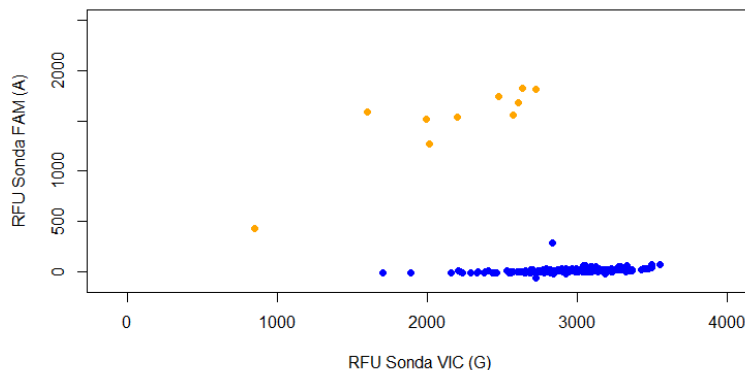
O teste Z foi aplicado para comparação entre frequências genóticas de mulheres com obesidade de genótipo G/A para o rs114066381 e o teste exato de

Fisher (comando “fisher.test” pela linguagem R) para análise da associação entre obesidade-frequência alélica do rs114066381-G>A.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

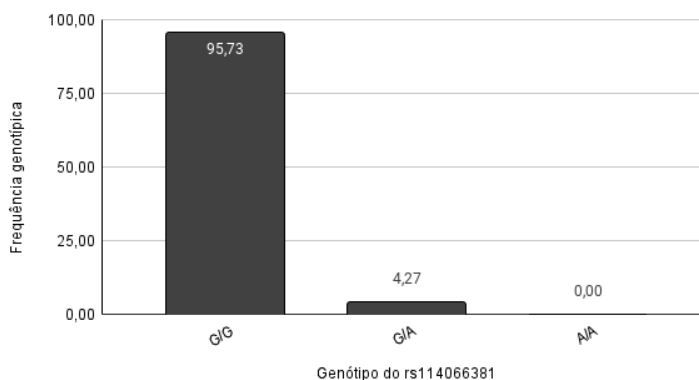
Em mulheres, após genotipagem e filtragem de duplicatas/triplicatas, 224 amostras apresentaram genótipo G/G e 10 amostras apresentaram o genótipo G/A, o que corresponde a 95,73% e 4,27% do total de amostras únicas, respectivamente. Não foram identificadas mulheres homozigotas do alelo A nessa coorte (Gráficos 1 e 2).

Gráfico 1 - Fluorescência das sondas VIC (eixo x) e FAM (eixo y) das amostras de DNA de mulheres com obesidade amplificadas em RFUs (*Relative Fluorescence Units* ou Unidades de Fluorescência Relativa, em português). As mulheres identificadas como homozigotas para o alelo selvagem do rs114066381 (G/G) estão representadas pelos pontos azuis e heterozigotas (G/A) pelos pontos em laranja



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 2 - Porcentagem de amostras de mulheres com obesidade da coorte de BH por genótipo do rs114066381



Fonte: Elaborado pelo autor.

Pode-se comparar a proporção de indivíduos heterozigotos para o rs114066381 no público feminino com obesidade ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) com as coortes de Bambuí e Pelotas do projeto EPIGEN através do teste Z de comparação de proporções, de modo a avaliar-se se são equivalentes. Nesse caso, observa-se que os tamanhos amostrais das coortes do EPIGEN são menores que o tamanho amostral da coorte de BH e a frequência genotípica de heterozigotos da coorte de BH apresenta valor bem próximo à mesma frequência na coorte de Bambuí do EPIGEN e menor em comparação à coorte de Pelotas do EPIGEN ou às duas coortes em conjunto. Não foram identificados indivíduos homozigotos do alelo A do rs114066381 nas coortes do EPIGEN (Tabela 5).

Tabela 5 - Tamanho amostral (N) e frequência genotípica de heterozigotos do rs114066381 no público feminino com obesidade das coortes de BH e do EPIGEN (Bambuí e Pelotas)

Coorte(s)	N	Frequência Genotípica (G/A)	Nº de indivíduos G/A
BH	234	0,0427	10
EPIGEN - Bambuí	97	0,0412	4

EPIGEN - Pelotas	167	0,0719	12
EPIGEN - Bambuí+Pelotas	264	0,0606	16

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para avaliar a diferença das proporções de indivíduos heterozigotos para o rs114066381 entre as coortes em termos de significância estatística, utilizou-se o teste estatístico Z e não foi observado diferença estatisticamente significativa em todas as comparações par a par das frequências genotípicas (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores de estatística de teste Z e valor p associado (valor de significância de 0,05 e teste bicaudal aplicados)

Coortes comparadas	Estatística de teste Z	Valor p
BH X EPIGEN - Bambuí	1,81e-31	1
BH X EPIGEN - Pelotas	1,0817	0,2983
BH X EPIGEN - Bambuí+Pelotas	0,4802	0,4883

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em outra análise, buscou-se comparar a frequência alélica do alelo A do SNP rs114066381 entre mulheres com obesidade da coorte de BH e mulheres sem sobrepeso ou obesidade ($IMC < 25\text{kg/m}^2$) das coortes do EPIGEN (Bambuí e Pelotas) por teste exato de Fisher. Nessa investigação, observou-se que a coorte de BH apresentou maior frequência do alelo A em relação às coortes do EPIGEN (2,14% em vista à 0,53% e 0,85%) (Tabela 7).

Tabela 7 - Número de alelos total (2N), por alelo e frequência do alelo A das coortes em estudo (somente mulheres)

Coorte(s)	2N	Número de alelos G	Número de alelos A	Frequência do alelo A
BH	468	458	10	0,0214
EPIGEN - Bambuí	474	470	4	0,0084
EPIGEN - Pelotas	2624	2610	14	0,0053
EPIGEN - Bambuí+Pelotas	3098	3080	18	0,0058

Fonte: Elaborado pelo autor.

Através do teste de associação exato de Fisher, foi possível observar associação significativa entre o alelo alterado rs114066381-A com obesidade tendo a coorte de Pelotas como controle, com razão de chance de 4,07; e nas coortes de Bambuí e de Pelotas em conjunto como controle, com razão de chance de 3,73 (Tabela 8).

Tabela 8 - Valores de razão de chance (RC) do teste exato de Fisher e valor p associado (somente mulheres)

Coortes comparadas	RC (IC ₉₅)	Valor p
BH X EPIGEN - Bambuí	2,56 (0,73-11,28)	0,1137
BH X EPIGEN - Pelotas	4,07 (1,61-9,92)	0,0015
BH X EPIGEN - Bambuí+Pelotas	3,73 (1,53-8,59)	0,0020

Fonte: Elaborado pelo autor.

Esses achados reforçam a importância de um tamanho amostral considerável para a avaliação consistente de associação entre o alelo rs114066381-A e fenótipos relacionados à obesidade em indivíduos do sexo feminino. Não foi possível investigar neste estudo a contribuição do fator ancestralidade devido a falta de dados de ancestralidade na coorte de Belo Horizonte, seja autodeclarada seja estimada a partir de dados genéticos.

Porém, este SNP é conhecidamente mais prevalente em populações africanas. Segundo dados do projeto *1000 Genomes*, a frequência do alelo alterado para o SNP rs114066381 é 3,03%, 0,4% e 0,3% para as populações gerais africana, europeia e americana, respectivamente. Dados do banco de dados *The Genome Aggregation Database (gnomAD)* indicam frequências de 2,52%, 1,15% e 1,06% para as mesmas populações nessa ordem.

Além disso, a principal variável utilizada para classificar indivíduos neste estudo em indivíduos sem obesidade/sobrepeso e com obesidade, o IMC, não é a mais apropriada para identificação de casos de risco, sendo superada por outras aferições antropométricas, como a razão cintura-quadril. Porém, a coorte de mulheres com obesidade e em tratamento compreende casos graves da doença com previsão de cirurgia bariátrica e, por esse motivo, acredita-se que indivíduos com fenótipos bem contrastantes foram incluídos no estudo, o que, por conseguinte, amenizou as limitações da variável empregada.

Ademais, fatores ambientais não foram controlados (Nicolaidis, 2019), o que pode ter gerado uma incerteza no tamanho de efeito observado da variante rs114066381.

O SNP rs114066381 está numa região intergênica do cromossomo 13 (13q12.3) e está a uma distância de ~4,3 kb do acentuador mais próximo, E1664176. Específica de primatas (não observada em outros vertebrados), a região do entorno dessa variante é rica em acentuadores e o próprio rs114066381 está dentro da sequência de ligação de 6 fatores de transcrição (*POU5F1*, *MPHOSPH8*, *ZNF549*, *ZNF280A*, *ZBTB7B* e *ZNF143*), 1 histona metil-transferases (*SETDB1*) e 1 proteína auxiliadora de complexos de repressão transcricional (*TRIM28*), indicando uma possível função regulatória de genes próximos (Figuras 8 e 9; Kent *et al.*, 2002).

O gene *SETDB1* codifica uma metil-transferase da lisina 9 da histona 3 e está envolvida na repressão transcricional de vários genes através da compactação da cromatina (Markouli *et al.*, 2021). A proteína SETDB1 é ativa em várias funções celulares, incluindo meiose e mitose em oócitos de camundongos (Eymery *et al.*, 2016), participação no controle do desenvolvimento do sistema nervoso (Tan *et al.*, 2012) e inibição da adipogênese (Musri *et al.*, 2010). Nesse último caso, a proteína

SETDB1 reprime a expressão do gene *cebpa* (importante para a diferenciação de adipócitos) através dimetilação da lisina 9 da histona 3 na região correspondente ao seu promotor em pré-adipócitos (Musri *et al.*, 2010).

No estudo de Bond *et al* (2021) observou-se que camundongos transgênicos fêmeas não portadores do gene *TRIM28* apresentaram, em relação ao tipo selvagem, maior porcentagem de gordura corporal em dieta regular ou com alto teor de gordura. Além disso, em indivíduos não portadores do gene *TRIM28*, alguns genes apresentaram expressão alterada, como no caso do gene *KLF14* (expressão drasticamente diminuída), anteriormente associado ao efeito específico do sexo biológico no metabolismo de lipídeos em adipócitos (Small *et al.*, 2018).

Esse gene codifica uma proteína com função correpressora transcricional através do auxílio ao recrutamento de proteínas modificadoras de histonas (incluindo a SETDB1) e interage com proteínas da família KRAB-ZFP (*Krüppel-associated box containing zinc finger proteins*, da sigla em inglês, ou proteínas dedo de zinco com domínio box de associação com Krüppel, em tradução ao português) (Sun *et al.*, 2019), uma extensa família de fatores de transcrição em mamíferos.

O gene *OCT4* (*octamer-binding transcription factor 4*, da sigla em inglês, ou fator de transcrição com ligação a sequências octâmeras 4, em tradução ao português), também denominado *POU5F1* (*POU domain, class 5, transcription factor 1*, da sigla em inglês, ou fator de transcrição 1 e classe 5 com domínio POU), codifica uma proteína importante para a estabilidade do estado indiferenciado de células tronco pluripotentes em embriões de mamíferos (Nichols *et al.*, 1998). De acordo com estudo de Xie *et al.* (2016) com camundongos, alterações da microbiota do intestino grosso estão relacionadas com estados inflamatórios e alterações de expressão gênica em oócitos (entre elas, aumento da expressão do *POU5F1*) que podem interferir em seu desenvolvimento.

A proteína codificada pelo gene *MPHOSPH8* (*M-phase phosphoprotein 8*, da sigla em inglês, ou fosfoproteína 8 da fase M), também denominado *MPP8*, compõe, em conjunto com proteínas de outros genes, o complexo HUSH (*Human Silencing Hub*, da sigla em inglês, ou Centro de Silenciamento Humano), um complexo proteico que reconhece, se liga a regiões genômicas ricas em trimetilação da lisina 9 da histona H3 e auxilia no recrutamento de proteínas modificadoras de histonas

(dentre elas, a SETDB1) de modo a conservar o silenciamento gênico dessas regiões (Tchasovnikarova *et al.*, 2015).

Até o momento, não foram encontrados artigos em que há associação entre os fatores de transcrição ZNF549, ZNF280A, ZNF143 e ZBTB7B e obesidade. Porém, esses fatores de transcrição, também chamados de proteínas dedo de zinco (*Zinc finger proteins*, do termo em inglês), apresentam papel importante na diferenciação de células tronco mesenquimais em adipócitos no tecido adiposo branco e no metabolismo de lipídeos pela regulação das vias de sinalização Wnt/ β -catenina, TGF- β /BMP/Smad e dos fatores de transcrição PPAR γ (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma*, do termo em inglês) e C/EBPs (*CCAAT/enhancerbinding proteins*, do termo em inglês) (Li *et al.*, 2023).

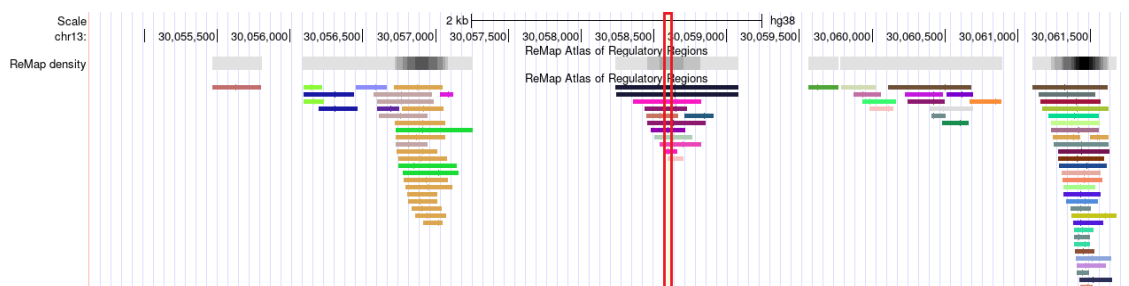
Portanto, essas informações, em conjunto, parecem indicar que o SNP rs114066381 pode alterar a ligação de fatores de transcrição relacionados à obesidade através de uma possível função repressora transcricional. No entanto, são necessários mais estudos para melhor elucidação deste mecanismo.

Figura 8 - Visualização de dados genômicos, regulatórios e populacionais pelo Genome Browser. É possível observar a posição do SNP rs114066381 (quadro vermelho), os acentuadores mais próximos (quadro verde) e a análise de conservação em vertebrados (quadro roxo)



Fonte: Kent *et al.* (2002).

Figura 9 - Visualização de regiões regulatórias do ReMap, banco de dados de regiões regulatórias de transcrição a partir de dados ChIP-seq, ChIP-exo e DAP-seq dos bancos de dados públicos *Gene Expression Omnibus* (GEO), *Encyclopedia of DNA Elements* (ENCODE) e *ArrayExpress*. A posição do SNP rs114066381 está indicada pelo quadro vermelho



Fonte: Kent *et al.* (2002).

Portanto, são necessários estudos funcionais que avaliem a função regulatória *in vitro* usando técnicas como RNA-seq para revelar o padrão de expressão gênica em linhagens celulares nas quais os fatores de transcrição mencionados anteriormente interagem nesta região. Dessa maneira, espera-se revelar, se existente, o mecanismo funcional alterado por rs114066381-A.

A associação específica por sexo biológico e ancestralidade africana pode estar envolvida com o genótipo “poupador” em mulheres de ancestralidade africana. Segundo essa teoria, primeiramente proposta pelo geneticista James V. Neel, a maior propensão ao desenvolvimento da obesidade em alguns indivíduos está relacionada ao genótipo “poupador” responsável pelo acúmulo de gordura em contextos de abundância de alimentos visando maiores chances de sobrevivência em situações de privação de alimentos (Neel, 1962; Neel, 1982; O’dea, 1995). Para explicar o exorbitante aumento de casos de obesidade e diabetes no século passado, Neel (1982) propôs também que o genótipo “poupador” fosse responsável por uma resistência à insulina seletiva relacionada à lipólise e, portanto, promotora de acumulação de gordura. Desse modo, a maior propensão ao estoque de energia em mulheres pode ser uma estratégia de garantia de energia para fatores que requerem bastante demanda energética e de importância para a sobrevivência da espécie, como a lactação e a gravidez.

6. CONCLUSÕES

Através dos ensaios de genotipagem de rs114066381G>A de pacientes com obesidade em tratamento no HC-UFMG e uso das coortes do EPIGEN como controle, foi possível comprovar a maior prevalência dessa variante nas pacientes em comparação com mulheres de IMC abaixo do normal ou normal. Não foi possível verificar a equivalência da frequência genotípica de heterozigotos entre as coortes de pacientes e as coortes do EPIGEN devido ao baixo tamanho amostral das últimas. Por teste exato de Fisher, observou-se que alelo A do SNP rs114066381, primeiramente identificado por Scliar *et al.* (2021), pode estar associado à obesidade. Porém, a falta de grupos controle para ancestralidade das pacientes, baixo controle sobre fatores ambientais e a falta de indivíduos homens com obesidade em tratamento impedem uma análise mais aprofundada sobre a

contribuição desses fatores para o efeito observado. O efeito específico de acordo com o sexo biológico do SNP rs114066381 pode estar relacionado ao efeito do genótipo poupador em mulheres. Entretanto, estudos futuros que possam revelar, em detalhes, o mecanismo funcional do SNP rs114066381 devem ser realizados para que a aplicabilidade dessa teoria possa ser avaliada.

7. REFERÊNCIAS

ABARCA-GÓMEZ, Leandra et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. **The Lancet**, v. 390, n. 10113, p. 2627-2642, dez. 2017. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)32129-3).

AKBARI, Parsa et al. Sequencing of 640,000 exomes identifies GPR75 variants associated with protection from obesity. **Science**, v. 373, n. 6550, p. eabf8683, 1 jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.abf8683>.

BENJAMIN, Kathleen; DONNELLY, Tam. Barriers and facilitators influencing the physical activity of Arabic adults: A literature review. **Avicenna**, n. 2013, p. 8, jul. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5339/avi.2013.8>.

BIEDERER, Thomas et al. SynCAM, a Synaptic Adhesion Molecule That Drives Synapse Assembly. **Science**, v. 297, n. 5586, p. 1525-1531, 30 ago. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1072356>.

BOND, Simon T. et al. Deletion of Trim28 in committed adipocytes promotes obesity but preserves glucose tolerance. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, 4 jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20434-3>.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo. Patologia Geral**. 9ª edição. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, RJ, 2016.

BRISCOE, D.; STEPHENS, J. C.; O'BRIEN, S. J. Linkage Disequilibrium in Admixed Populations: Applications in Gene Mapping. **Journal of Heredity**, jan. 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111397>.

CARDENA, Mari Maki Síria Godoy. **Mapeamento por miscigenação em amostra de pacientes brasileiros com insuficiência cardíaca**. 2018. Universidade de São Paulo, [s. l.], 2018. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-11092018-134127/>.

CARROLL, Joan F. *et al.* Visceral Fat, Waist Circumference, and BMI: Impact of Race/ethnicity. **Obesity**, v. 16, n. 3, p. 600-607, mar. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/oby.2007.92>.

CHAKRABORTY, R.; WEISS, K. M. Admixture as a tool for finding linked genes and detecting that difference from allelic association between loci. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, n. 23, p. 9119-9123, 1 dez. 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.85.23.9119>.

CHANG, Eric; VARGHESE, Mita; SINGER, Kanakadurga. Gender and Sex Differences in Adipose Tissue. **Current Diabetes Reports**, v. 18, n. 9, 30 jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1031-3>.

CHENG, Ching-Yu *et al.* Admixture Mapping of 15,280 African Americans Identifies Obesity Susceptibility Loci on Chromosomes 5 and X. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 5, p. e1000490, 22 maio 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000490>.

CHURCH, Chris *et al.* Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. **Nature Genetics**, v. 42, n. 12, p. 1086-1092, 14 nov. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.713>.

CHURCH, Timothy S. *et al.* Trends over 5 Decades in U.S. Occupation-Related Physical Activity and Their Associations with Obesity. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, p. e19657, 25 maio 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019657>.

CLAUSSNITZER, Melina *et al.* FTO Obesity Variant Circuitry and Adipocyte Browning in Humans. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 10, p. 895-907, 3 set. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1502214>.

DREWNOWSKI, Adam. Obesity and the food environment. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 27, n. 3, p. 154-162, out. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2004.06.011>.

EYMERY, Angeline *et al.* The methyltransferase Setdb1 is essential for meiosis and mitosis in mouse oocytes and early embryos. **Development**, v. 143, n. 15, p. 2767-2779, 17 jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/dev.132746>.

FACCIOLI, N. *et al.* Current Treatments for Patients with Genetic Obesity. **Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology**, p. 0, 16 maio 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.4274/jcrpe.galenos.2023.2023-3-2>.

FALCHI, Mario *et al.* Low copy number of the salivary amylase gene predisposes to obesity. **Nature Genetics**, v. 46, n. 5, p. 492-497, 30 mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.2939>.

FANG, Kehong *et al.* Screen time and childhood overweight/obesity: A systematic review and meta-analysis. **Child: Care, Health and Development**, v. 45, n. 5, p. 744-753, 24 jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cch.12701>.

FEDERAÇÃO MUNDIAL DA OBESIDADE. Atlas Mundial da Obesidade. 2023. <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=19>.

FISCHER, Julia *et al.* Inactivation of the Fto gene protects from obesity. **Nature**, v. 458, n. 7240, p. 894-898, 22 fev. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature07848>.

FLEGAL, Katherine M. *et al.* Cause-Specific Excess Deaths Associated With Under weight, Overweight, and Obesity. **JAMA**, v. 298, n. 17, p. 2028, 7 nov. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.298.17.2028>.

FRAYLING, T. M. *et al.* A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. **Science**, v. 316, n. 5826, p. 889-894, 11 maio 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1141634>.

GARAULET, M. *et al.* Anthropometric, computed tomography and fat cell data in an obese population: relationship with insulin, leptin, tumor necrosis factor-alpha, sex hormone-binding globulin and sex hormones. **European Journal of Endocrinology**,

v. 143, n. 5, p. 657-666, 1 nov. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/eje.0.1430657>.

GHOSHAL, Kakali; BHATTACHARYYA, Maitree. Adiponectin: Probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity. **World Journal of Diabetes**, v. 6, n. 1, p. 151, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i1.151>.

GIANNICHI, Beatriz Vitória. Projeção da carga econômica das doenças crônicas não transmissíveis atribuível ao excesso de peso no Brasil entre 2020-2030. 2023.

HJELHOLT, Astrid *et al.* Growth Hormone and Obesity. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 49, n. 2, p. 239-250, jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2020.02.009>.

HOSSEINI, Zeinab *et al.* Associations between social connections, their interactions, and obesity differ by gender: A population-based, cross-sectional analysis of the Canadian Longitudinal Study on Aging. **PLOS ONE**, v. 15, n. 7, p. e0235977, 30 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235977>.

HOWIE, Bryan N.; DONNELLY, Peter; MARCHINI, Jonathan. A Flexible and Accurate Genotype Imputation Method for the Next Generation of Genome-Wide Association Studies. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 6, p. e1000529, 19 jun. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000529>.

HOWIE, Bryan; MARCHINI, Jonathan; STEPHENS, Matthew. Genotype Imputation with Thousands of Genomes. **G3; Genes|Genomes|Genetics**, v. 1, n. 6, p. 457-470, nov. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1534/g3.111.001198>.

JAACKS, Lindsay M. *et al.* The obesity transition: stages of the global epidemic. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 7, n. 3, p. 231-240, mar. 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(19\)30026-9](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(19)30026-9).

JARICK, Ivonne *et al.* Novel common copy number variation for early onset extreme obesity on chromosome 11q11 identified by a genome-wide analysis. **Human Molecular Genetics**, v. 20, n. 4, p. 840-852, 2 dez. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq518>.

JUNG, Hae-Un *et al.* Gene-environment interaction explains a part of missing heritability in human body mass index. **Communications Biology**, v. 6, n. 1, 25 mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04679-4>.

KAISINGER, Lena R. *et al.* Large-scale exome sequence analysis identifies sex- and age-specific determinants of obesity. **Cell Genomics**, p. 100362, ago. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xgen.2023.100362>.

KARRA, Efthimia *et al.* A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 8, p. 3539-3551, 15 jul. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/jci44403>.

KATZMARZYK, Peter T. *et al.* Racial differences in abdominal depot-specific adiposity in white and African American adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, n. 1, p. 7-15, 14 out. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28136>.

KAUR, Y. *et al.* A systematic review of genetic syndromes with obesity. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 6, p. 603-634, 27 mar. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/obr.12531>.

KENT, W. J. *et al.* The Human Genome Browser at UCSC. **Genome Research**, v. 12, n. 6, p. 996-1006, 16 maio 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/gr.229102>.

KIM, Y. J. *et al.* GPRC5B Activates Obesity-Associated Inflammatory Signaling in Adipocytes. **Science Signaling**, v. 5, n. 251, p. ra85, 20 nov. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003149>.

KOJTA, Iwona; CHACIŃSKA, Marta; BŁACHNIO-ZABIELSKA, Agnieszka. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1305, 3 maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12051305>.

KRAFT, Peter; ZEGGINI, Eleftheria; IOANNIDIS, John P. A. Replication in Genome-Wide Association Studies. **Statistical Science**, v. 24, n. 4, p. 561-573, nov. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1214/09-sts290>.

KROLL, Danielle S. *et al.* Neuroimaging of Sex/Gender Differences in Obesity: A Review of Structure, Function, and Neurotransmission. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 1942, 30 jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12071942>.

KROTKIEWSKI, M. *et al.* Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. **Journal of Clinical Investigation**, v. 72, n. 3, p. 1150-1162, 1 set. 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/jci111040>.

LARDER, Rachel *et al.* Obesity-associated gene TMEM18 has a role in the central control of appetite and body weight regulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 35, p. 9421-9426, 15 ago. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1707310114>.

LEBRÃO, Maria Lúcia *et al.* 10 Anos do Estudo SABE: antecedentes, metodologia e organização do estudo. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 21, p. e180002, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-549720180002.supl.2>.

LEMAMSHA, H.; RANDHAWA, G.; PAPADOPOULOS, C. Prevalence of Overweight and Obesity among Libyan Men and Women. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1-16, 15 jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2019/8531360>.

LI, Bolun *et al.* The Role of Zinc Finger Proteins in the Fate Determination of Mesenchymal Stem Cells during Osteogenic and Adipogenic Differentiation. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, p. 106507, dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2023.106507>.

LOFTON, Holly *et al.* Obesity among African American people in the United States : A review. **Obesity**, v. 31, n. 2, p. 306-315, 25 jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/oby.23640>.

LOOS, Ruth J. F.; YEO, Giles S. H. The genetics of obesity: from discovery to biology. **Nature Reviews Genetics**, 23 set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00414-z>.

MAHMOUD, Ranim; KIMONIS, Virginia; BUTLER, Merlin G. Genetics of Obesity in Humans: A Clinical Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11005, 20 set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms231911005>.

MALIS, Charlotte *et al.* Total and Regional Fat Distribution is Strongly Influenced by Genetic Factors in Young and Elderly Twins. **Obesity Research**, v. 13, n. 12, p. 2139-2145, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/oby.2005.265>.

MARKOULI, Mariam; STREPKOS, Dimitrios; PIPERI, Christina. Structure, Activity and Function of the SETDB1 Protein Methyltransferase. **Life**, v. 11, n. 8, p. 817, 11 ago. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/life11080817>.

MARTIN, Alicia R. *et al.* Clinical use of current polygenic risk scores may exacerbate health disparities. **Nature Genetics**, v. 51, n. 4, p. 584-591, 29 mar. 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0379-x>.

MASOOD, Beenish; MOORTHY, Myuri. Causes of obesity: a review. **Clinical Medicine**, v. 23, n. 4, p. 284-291, jul. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.7861/clinmed.2023-0168>.

MCKEIGUE, Paul M. Mapping Genes That Underlie Ethnic Differences in Disease Risk: Methods for Detecting Linkage in Admixed Populations, by Conditioning on Parental Admixture. **The American Journal of Human Genetics**, v. 63, n. 1, p. 241-251, jul. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/301908>.

MCKEIGUE, Paul M. Mapping genes underlying ethnic differences in disease risk by linkage disequilibrium in recently admixed populations. **American journal of human genetics**, v. 60, n. 1, p. 188, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Painel de Indicadores de Saúde – Pesquisa Nacional de Saúde**. Disponível em: <https://www.pns.icict.fiocruz.br/painel-de-indicadores-mobile-desktop/>.

MOLL, Patricia P.; BURNS, Trudy L.; LAUER, RM1686453. The genetic and environmental sources of body mass index variability: the Muscatine Ponderosity Family Study. **American journal of human genetics**, v. 49, n. 6, p. 1243, 1991.

MUSCOGIURI, G. *et al.* Obesity: a gender-view. **Journal of Endocrinological Investigation**, 23 set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40618-023-02196-z>.

MUSRI, Melina M. *et al.* Histone Demethylase LSD1 Regulates Adipogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 39, p. 30034-30041, 23 jul. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.151209>.

NCD RISK FACTOR COLLABORATION. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. **The Lancet**, v. 387, n. 10026, p. 1377-1396, abr. 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)30054-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)30054-x).

NEEL, James V. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? **American journal of human genetics**, v. 14, n. 4, p. 353, 1962. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1932342/>.

NEEL, James V. The thrifty genotype revisited. In: **The Genetics of Diabetes Mellitus, Proceedings of the Serono Symposium**. Academic Press, 1982. p. 283-293.

NG, Marie *et al.* Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The Lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-781, ago. 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)60460-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)60460-8).

NICHOLS, Jennifer *et al.* Formation of Pluripotent Stem Cells in the Mammalian Embryo Depends on the POU Transcription Factor Oct4. **Cell**, v. 95, n. 3, p. 379-391, out. 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81769-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81769-9).

NICOLAIDIS, Stylianos. Environment and obesity. **Metabolism**, v. 100, p. 153942, nov. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.07.006>.

O'DEA, Kerin. Overview of the thrifty genotype hypothesis. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 4, p. 339-340, 1995.

O'RAHILLY, Stephen. Human genetics illuminates the paths to metabolic disease. **Nature**, v. 462, n. 7271, p. 307-314, nov. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature08532>.

OGDEN, Cynthia L. *et al.* Prevalence of Overweight and Obesity in the United States, 1999-2004. **JAMA**, v. 295, n. 13, p. 1549, 5 abr. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.295.13.1549>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. Geneva: World Health Organization, 2000a. 253 p. (WHO Obesity Technical Report Series, n. 894). Disponível em: http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment. 2000b.

PATTERSON, Nick *et al.* Methods for High-Density Admixture Mapping of Disease Genes. **The American Journal of Human Genetics**, v. 74, n. 5, p. 979-1000, maio 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/420871>.

PEDERSEN, Steen B. *et al.* Estrogen Controls Lipolysis by Up-Regulating α 2A-Adrenergic Receptors Directly in Human Adipose Tissue through the Estrogen Receptor α . Implications for the Female Fat Distribution. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 4, p. 1869-1878, 1 abr. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031327>.

PIGEYRE, Marie *et al.* Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. **Clinical Science**, v. 130, n. 12, p. 943-986, 6 maio 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/cs20160136>.

RANKINEN, Tuomo *et al.* The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. **Obesity**, v. 14, n. 4, p. 529-644, abr. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/oby.2006.71>.

RATHJEN, Thomas *et al.* Regulation of body weight and energy homeostasis by neuronal cell adhesion molecule 1. **Nature Neuroscience**, v. 20, n. 8, p. 1096-1103, 19 jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nn.4590>.

RICHELSEN, B. Increased α 2- but similar β -adrenergic receptor activities in subcutaneous gluteal adipocytes from females compared with males. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 16, n. 4, p. 302-309, ago. 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1986.tb01346.x>.

RIFE, David C. Populations of hybrid origin as source material for the detection of linkage. **The American Journal of Human Genetics**, v. 06(1), p. 26-33, mar. 1954.

ROSE, Kathryn M. *et al.* Genetic and Behavioral Determinants of Waist-Hip Ratio and Waist Circumference in Women Twins. **Obesity Research**, v. 6, n. 6, p. 383-392, nov. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1998.tb00369.x>.

ROSENBERG, N. A. Genetic Structure of Human Populations. **Science**, v. 298, n. 5602, p. 2381-2385, 20 dez. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1078311>.

SCLIAR, Marília O. *et al.* Admixture/fine-mapping in Brazilians reveals a West African associated potential regulatory variant (rs114066381) with a strong female-specific effect on body mass and fat mass indexes. **International Journal of Obesity**, v. 45, n. 5, p. 1017-1029, 26 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00761-1>.

SERRA-JUHÉ, Clara *et al.* Novel genes involved in severe early-onset obesity revealed by rare copy number and sequence variants. **PLOS Genetics**, v. 13, n. 5, p. e1006657, 10 maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006657>.

SHRINER, Daniel. Overview of Admixture Mapping. **Current Protocols in Human Genetics**, v. 76, n. 1, jan. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0123s76>.

SMALL, Kerrin S. *et al.* Regulatory variants at KLF14 influence type 2 diabetes risk via a female-specific effect on adipocyte size and body composition. **Nature Genetics**, v. 50, n. 4, p. 572-580, abr. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0088-x>.

SMEMO, Scott *et al.* Obesity-associated variants within FTO form long-range functional connections with IRX3. **Nature**, v. 507, n. 7492, p. 371-375, mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature13138>.

SOARES-SOUZA, Giordano *et al.* Admixture, Genetics and Complex Diseases in Latin Americans and US Hispanics. **Current Genetic Medicine Reports**, v. 6, n. 4, p. 208-223, 29 set. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40142-018-0151-z>.

SOBREIRA, Débora R. *et al.* Extensive pleiotropism and allelic heterogeneity mediate metabolic effects of IRX3 and IRX5. **Science**, v. 372, n. 6546, p. 1085-1091, 3 jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.abf1008>.

SPAIN, Sarah L.; BARRETT, Jeffrey C. Strategies for fine-mapping complex traits. **Human Molecular Genetics**, v. 24, R1, p. R111—R119, 8 jul. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv260>.

SPELIOTES, Elizabeth K. *et al.* Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. **Nature Genetics**, v. 42, n. 11, p. 937-948, 10 out. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.686>.

STEPHENS, J. Claiborne; BRISCOE, David; O'BRIEN, Stephen J. Mapping by admixture linkage disequilibrium in human populations: limits and guidelines. **American journal of human genetics**, v. 55, n. 4, p. 809, 1994.

STRATIGOPOULOS, George *et al.* Cut-like Homeobox 1 (CUX1) Regulates Expression of the Fat Mass and Obesity-associated and Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator-interacting Protein-1-like (RPGRIP1L) Genes and Coordinates Leptin Receptor Signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 3, p. 2155-2170, 31 out. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.188482>.

STUNKARD, Albert J. A Twin Study of Human Obesity. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 256, n. 1, p. 51, 4 jul. 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.1986.03380010055024>.

SUAREZ-PAJES, Eva *et al.* Genetic Ancestry Inference and Its Application for the Genetic Mapping of Human Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 6962, 28 jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22136962>.

SUN, Yunyuan *et al.* A Dissection of Oligomerization by the TRIM28 Tripartite Motif and the Interaction with Members of the Krab-ZFP Family. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 14, p. 2511-2527, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.002>.

SWINBURN, B. A. *et al.* Body composition differences between Polynesians and Caucasians assessed by bioelectrical impedance. **International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity**, v. 20, n. 10, p. 889-894, 1996.

TAN, S. L. *et al.* Essential roles of the histone methyltransferase ESET in the epigenetic control of neural progenitor cells during development. **Development**, v. 139, n. 20, p. 3806-3816, 18 set. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/dev.082198>.

TCHASOVNIKAROVA, I. A. *et al.* Epigenetic silencing by the HUSH complex mediates position-effect variegation in human cells. **Science**, v. 348, n. 6242, p. 1481-1485, 28 maio 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaa7227>.

UDO, Tomoko; GRILO, Carlos M.; MCKEE, Sherry A. Gender differences in the impact of stressful life events on changes in body mass index. **Preventive Medicine**, v. 69, p. 49-53, dez. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2014.08.036>.

VASINCU, Alexandru *et al.* Exploring the Therapeutic Potential of Cannabinoid Receptor Antagonists in Inflammation, Diabetes Mellitus, and Obesity.

Biomedicines, v. 11, n. 6, p. 1667, 8 jun. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061667>.

VEERAMAH, Krishna R.; HAMMER, Michael F. The impact of whole-genome sequencing on the reconstruction of human population history. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 3, p. 149-162, 4 fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrg3625>.

WAALEN, Jill. The genetics of human obesity. **Translational Research**, v. 164, n. 4, p. 293-301, out. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.05.010>.

WARDLE, Jane *et al.* Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 398-404, 1 fev. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.2.398>.

WELLS, Jonathan C. K. *et al.* Associations of economic and gender inequality with global obesity prevalence: Understanding the female excess. **Social Science & Medicine**, v. 75, n. 3, p. 482-490, ago. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2012.03.029>.

WHEELER, Eleanor *et al.* Genome-wide SNP and CNV analysis identifies common and low-frequency variants associated with severe early-onset obesity. **Nature Genetics**, v. 45, n. 5, p. 513-517, 7 abr. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.2607>.

WILLER, Cristen J. *et al.* Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. **Nature Genetics**, v. 41, n. 1, p. 25-34, 14 dez. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ng.287>.

WINKLER, Cheryl A.; NELSON, George W.; SMITH, Michael W. Admixture Mapping Comes of Age. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 11, n. 1, p. 65-89, set. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-082509-141523>.

XIE, Fang *et al.* Obesity-Dependent Increases in Oocyte mRNAs Are Associated With Increases in Proinflammatory Signaling and Gut Microbial Abundance of Lachnospiraceae in Female Mice. **Endocrinology**, v. 157, n. 4, p. 1630-1643, 16 fev. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/en.2015-1851>.

YAN, Xin *et al.* Cadm2 regulates body weight and energy homeostasis in mice. **Molecular Metabolism**, v. 8, p. 180-188, fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.11.010>.

ZHU, Xiaofeng; TANG, Hua; RISCH, Neil. Admixture mapping and the role of population structure for localizing disease genes. **Advances in genetics**, v. 60, p. 547-569, 2008.

ŻUKIEWICZ-SOBCZAK, Wioletta *et al.* Obesity and poverty paradox in developed countries. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 21, n. 3, p. 590-594, 4 set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5604/12321966.1120608>.

8. ANEXOS

ANEXO A

Tabela A1: Síndromes associadas com obesidade de caráter monogênico com fatores genéticos envolvidos elucidados. Genes que estão seguidos por “*” não foram validados por segundos estudos independentes. Para acessar os tipos de variantes genéticas de cada gene e os artigos científicos de cada relação síndrome-gene, consultar a fonte

Nome da síndrome/gene e número OMIM	Sintomas clínicos	Tipo de herança	Provável(is) gene(s) causal(is) / região cromossômica	A obesidade é um dos principais sintomas?	É completamente elucidada geneticamente?
Síndrome da microduplicação na região 5p13	Atraso de desenvolvimento, autismo, obesidade, linfedema, hipertensão e macrocefalia.	Autossômica dominante	NIPBL	Não	Sim
Osteodistrofia hereditária Albright/pseudohipoparatiroidismo do tipo Ia	Encurtamento de ossos das mãos ou pés, baixa estatura, obesidade e deficiência intelectual	Autossômica dominante	GNAS / GNAS1	Sim	Sim
Síndrome de Alström (OMIM 203800)	Perda de visão/audição, obesidade infantil, resistência a insulina e diabetes do tipo 2	Autossômica recessiva	ALMS1	Sim	Sim
Síndrome de Angelman (OMIM 105830)	Atraso de desenvolvimento, distúrbio da fala, epilepsia e marcha atáxica	Não elucidada	Anomalias do cromossomo 15, UBE3A	Não	Sim
Síndrome de Laurence-Moon-Barde t- Biedl/ Síndrome de Bardet-Biedl (OMIM 209900)	Retinite pigmentosa, obesidade, disfunção renal, polidactilia, disfunção comportamental e hipogonadismo	Autossômica recessiva	BBS1, BBS2, BBS3/ARL6, BBS4, BBS5, BBS6/MKKS, BBS7, BBS8/TTC8, BBS9/PTHB1, BBS10, BBS11/TRIM32, BBS12, BBS13/MKS1, BBS14/CEP290, BBS15/WDPCP, BBS16/SDCCAG8/NPHP 10*, BBS17/LZTFL1, BBS18/BBIP1,	Não	Não

			BBS19/IFT27*, BBS20/IFT172, BBS21/C8ORF37		
Síndrome de Börjeson-Forssman-Lehmann (OMIM 301900)	Deficiência intelectual grave, epilepsia, microcefalia, baixa estatura, obesidade, hipogonadismo e ginecomastia	Associada ao cromossomo X	PHF6	Não	Sim
Síndrome de Carpenter/acrocefalopolissindactilia tipo II (OMIM 201000)	Acrocefalia, sindactilia do tecido mole, formação incompleta ou não formação da falange dos pés e das mãos, polidactilia pré-axial, cardiopatia congênita, deficiência intelectual, hipogonadismo, obesidade e hérnia umbilical	Autossômica recessiva	RAB23	Sim	Sim
Síndrome CHOPS	Comprometimento cognitivo, características faciais específicas, defeitos cardíacos, obesidade, envolvimento pulmonar, baixa estatura e displasia esquelética	Autossômica dominante	AFF4	Sim	Sim
Síndrome de Chudley-Lowry (OMIM 309580)	Deficiência intelectual, baixa estatura, obesidade leve, hipogonadismo e características faciais específicas	Associada ao cromossomo X recessivo	XNP/ATR-X*	Sim	Sim
Síndrome de Coffin-Lowry (OMIM 303600)	Deficiência intelectual grave a profunda em homens e normal a profunda em mulheres, características faciais específicas, malformação das mãos, baixa estatura, microcefalia e defeitos cardíacos	Associada ao cromossomo X	RSK2/ RPS6KA3	Não	Sim
Síndrome de Cohen (OMIM 216550)	Deficiência intelectual, dismorfismo facial, microcefalia, distrofia de retina, obesidade andróide, hiper mobilidade articular e neutropenia intermitente	Autossômica recessiva	VPS13B/ COH1	Não	Sim
Síndrome de Cornelia de Lange / Síndrome de Brachmann-de Lange-syndrome (OMIM	Deficiência intelectual, características faciais específicas, retardo de crescimento pré/pós-natal, hirsutismo e obesidade	Autossômica dominante / Não elucidada / Associado ao cromossomo X	NIPBL, RAD21, SMC1A, SMC3, HDAC8	Não	Não

122470)					
Síndrome de Kabuki/ Síndrome de Niikawa– Kuroki(OMIM 147920)	Características faciais específicas, deficiência intelectual, malformações esqueléticas e viscerais, baixa estatura pós-natal com sobrepeso	Autossômica dominante / Associada ao cromossomo X dominante	KMT2D/MLL2/ALR/KABUK1, KDM6A/UTX/KABUK2	Não	Não
Síndrome de Kallmann / hipogonadismo hipogonadotrópico com anosmia (OMIM 308700)	Anosmia/hiposmia e hipogonadismo hipogonadotrópico	Autossômica dominante / Associada ao cromossomo X / Autossômica recessiva	FGFR1, KAL1, PROK2, PROKR2, SOX10	Não	Não
Síndrome de Kleeffstra / Síndrome de deleção do 9q34.3	Deficiência intelectual, obesidade, hipotonia, braquiocéfalia, características faciais específicas e defeitos cardíacos	Autossômica dominante	EHMT1	Não	Não
Síndrome de Laron / Deficiência do receptor do hormônio de crescimento (OMIM 262500)	Baixa estatura, força e resistência musculares reduzidas, obesidade, hipoglicemia infantil, genitálias reduzidas, puberdade atrasada, cabelos finos e frágeis e anomalias dentárias	Autossômica recessiva	GHR	Sim	Sim
Síndrome MORM	Deficiência mental moderada, obesidade androide, distrofia de retina congênita não-progressiva e micropênis	Autossômica recessiva / Variável	INPP5E*	Sim	Não
Síndrome de Prader–Willi/ Síndrome de Prader–Labhart–Willi (OMIM 176270)	Dificuldades na alimentação durante infância, obesidade e hiperfagia com início na infância, hipotonia, hipoplasia genital, atraso de desenvolvimento, deficiência de hormônio do crescimento, baixa estatura, mãos e pés pequenos, problemas comportamentais	Não informada	MKRN3/ZNF127, MAGEL2, NDN, NPAP1/C15orf2, SNURF–SNRPN, pequenos RNAs nucleolares, especificamente SNORD115/HBII-52 e SNORD116/HBII-85, anomalias da região cromossômica 15q11–q13 herdada do pai	Não informado	Não informado

Fenótipo similar à síndrome de Prader-Willi	Atraso intelectual, psicomotor e de desenvolvimento, obesidade, hipotonia e encurtamento das extremidades	Autossômica dominante / Associada ao cromossomo X dominante	SIM1, MRAP2, FMR1, 6q16.3q23.3	Sim	Não
Síndrome da deleção proximal 16p11.2	Obesidade, autismo, deficiência intelectual, anomalias congênicas e atraso de desenvolvimento.	Autossômica dominante	SH2B1, KCTD13	Sim	Não
Síndrome de Rubinstein-Taybi	Baixa estatura, obesidade, problemas de visão, queloides, problemas de alimentação, coluna encurvada e problemas nas juntas	Autossômica dominante	CREBBP, EP300	Não	Não
Síndrome de Smith-Magenis (OMIM 182290)	Deficiência intelectual, atraso na fala e linguagem, características faciais específicas, distúrbios de sono, obesidade e problemas comportamentais.	De-novo ou autossômica dominante	RAI1	Sim	Sim
Síndrome WAGRO	Aniridia, tumor de Wilms, anomalias genitourinárias, obesidade, atraso de crescimento e deficiência intelectual.	Autossômica dominante	BDNF	Sim	Sim
Sem nome 1	Obesidade grave no início da vida, hiperfagia, atraso de desenvolvimento, problemas em funções neurológicas complexas	De novo	NTRK2*	Sim	Sim
Sem nome 2	Puberdade atrasada, hipogonadismo, macrocefalia, baixa estatura, obesidade androide, ataques agressivos repentinos, tremores, pés cavos e anomalias nos dedos.	Associada ao cromossomo X	CUL4B*	Sim	Sim
Sem nome 3	Deficiência intelectual, redemoinho capilar, características faciais específicas, pescoço grosso e curto, linha posterior do cabelo baixa, mamilos bem espaçados, micropênis, pés pequenos e achatados, hirsutismo, pele irritada e seca	Associada ao cromossomo X	UBE2A/HR6A	Sim	Sim

Sem nome 4	Hiperfagia, obesidade grave, atraso de desenvolvimento, déficit cognitivo e hiperatividade	Autossômica dominante	BDNF	Sim	Sim
Sem nome 5	Obesidade grave no início da vida, hiperfagia, resistência desproporcional à insulina, problemas de comportamento e baixa estatura na idade adulta	Autossômica dominante	SH2B1*	Sim	Sim
Sem nome 6	Deterioração da visão, obesidade, níveis normais de glicose, colesterol e triglicérides	Autossômica recessiva	TUB*	Sim	Sim
Sem nome 7	Deficiência intelectual moderada, problemas de comportamento com características de autismo/agressividade, epilepsia, escoliose e obesidade androide	Autossômica dominante	CHD2, RGMA*	Sim	Não

Fonte: Kaur *et al.* (2017).

ANEXO B

Tabela B1: Síndromes associadas com obesidade de caráter monogênico com fatores genéticos envolvidos não elucidados. Síndromes que estão seguidas por “*” foram reportadas em somente um paciente. Para acessar os tipos de variantes genéticas e os artigos científicos de cada relação síndrome-região cromossômica, consultar a fonte

Nome da síndrome/gene e número OMIM	Sintomas clínicos	Tipo de herança	Região cromossômica	A obesidade é um dos principais sintomas?
Síndrome de Camera-Marugo-Cohen (OMIM 604257)	Baixa estatura, deficiência intelectual, obesidade, hipogonadismo, micropênis, contratura dos dedos e assimetria do corpo	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Síndrome de Clark-Baraitser (OMIM 300602)	Deficiência intelectual, macrocefalia, características faciais específicas e obesidade	Associada ao cromossomo X	Desconhecida	Sim
Síndrome de DiGeorge / Síndrome de deleção 22q11.2	Obesidade, hiperfagia, hipoplasia da tireoide e das paratireoides, anomalias do palato, malformações cardíacas e sintomas psiquiátricos como comportamento agressivo	Autossômica dominante	22q11.2	Não
Síndrome de deleção 16p11.2	Atraso de desenvolvimento, problemas de comportamento, morfologia facial incomum e obesidade	Autossômica dominante	16p11.2	Não
Síndrome MEHMO (OMIM 300148)	Deficiência intelectual, ataques de epilepsia, hipogonadismo, microcefalia e obesidade	Associada ao cromossomo X / mitocondrial	Xp21.1– p22.13	Sim
Síndrome MOMES (OMIM 606772)	Deficiência intelectual, atraso de fala, obesidade, anomalias oculares e craniofaciais	Autossômica recessiva	4q35.1 / 5p14.3	Sim
Síndrome MOMO (OMIM 157980)	Macrocefalia, obesidade, anomalias oculares (coloboma e nistagmo), fenda palpebral oblíqua, deficiência intelectual, maturidade óssea atrasada	Autossômica dominante	Desconhecida	Sim

Síndrome de Morgagni-Stewart-Morel / hiperostose frontal interna (OMIM 144800)	Hiperostose frontal interna avançada, obesidade, déficit cognitivo	Autossômica dominante ou associada ao cromossomo X dominante	Desconhecida	Não
Cromossomo 4 em anel	Atraso de desenvolvimento leve, surdez, baixa estatura, obesidade e início da diabetes do tipo 2 na adolescência	Desconhecida	4p distal	Não
Cromossomo 11 em anel	Anomalias oculares, defeitos articulares/esqueléticos/musculares, obesidade, criptorquidia e deficiência intelectual leve	Desconhecida	r (11) (p15.5–q25)	Sim
Síndrome ROHHAD	Obesidade de início rápido com disfunção do hipotálamo, hipoventilação, disautonomia	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Síndrome ROHHADNET	Obesidade de início rápido, disfunção do hipotálamo, hipoventilação e disautonomia associada com tumor neural	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Síndrome de Shashi XLMR	Deficiência intelectual, características faciais específicas, lábio superior proeminente, testículos grandes e obesidade	Associada ao cromossomo X	Xq26–Xq27	Sim
Sem nome 1	Hipotonia e atraso de desenvolvimento, anomalias de crescimento, obesidade e dismorfismo craniofacial	Desconhecida	1p36	Sim
Sem nome 2	Obesidade precoce, hiperfagia, deficiência intelectual e problemas de comportamento	Desconhecida	2p25	Sim
Sem nome 3*	Distúrbio Abrangente do Desenvolvimento, atraso de fala e obesidade precoce	Desconhecida	3p25–p26.2	Sim
Sem nome 4	Dismorfismo leve, apresentação tardia de dificuldade de aprendizado e problemas de comportamento, obesidade, hipertrofia mamária e epífise femoral capital escorregadia bilateral	Desconhecida	4q32.1q32.3	Sim
Sem nome 5	Deficiência intelectual, dismorfismo secundário, obesidade e hipoplasia	Desconhecida	t(4;14)(q12;q13)	Sim

	genital			
Sem nome 6*	Deficiência intelectual, baixa estatura, obesidade, microcefalia, braquicefalia, filtro labial curto e liso, redemoinho capilar central, prega palmar transversa única, braquidactilia do dedo mínimo, desproporção esquelética	Desconhecida	6q14–q16	Sim
Sem nome 7	Deficiência intelectual, baixa estatura, mãos, pés e bocas pequenos, anomalias oculares e obesidade	Desconhecida	6q24.3–q27 paterno	Sim
Sem nome 8	Desenvolvimento irregular, características dismórficas, atraso psicomotor e obesidade androide	Desconhecida	9q34	Não
Sem nome 9	Deficiência intelectual, obesidade, crescimento excessivo e características dismórficas	Desconhecida	11p15.4	Sim
Sem nome 10	Dismorfismo facial, baixa estatura com extremidades pequenas, ceratocone, sobrepeso e deficiência intelectual	Não aplicável	11q24.1	Não
Sem nome 11	Deficiência intelectual, obesidade, características dismórficas variáveis e comportamento de busca por alimento	Desconhecida	12q subtelômero	Sim
Sem nome 12	Deficiência intelectual, convulsões, obesidade e diabetes	Desconhecida	17p13.1– p13.2	Sim
Sem nome 13	Deficiência intelectual, atraso de fala, obesidade androide, convulsões, perda de audição e características faciais específicas	Desconhecida	17q24.2	Sim
Sem nome 14*	Heterotopia nodular periventricular bilateral, dificuldade de aprendizado grave, obesidade e epilepsia	Desconhecida	der (19) t(X;19) (q11.1–11.2;p13.3)	Sim
Sem nome 15	Obesidade, baixa estatura, hipertricose e dismorfismo facial	Desconhecida	19p13.12	Sim
Sem nome 16	Macrocefalia, obesidade, deficiência intelectual, problemas de comportamento	Desconhecida	19p13.3	Não
Sem nome 17	Atraso de desenvolvimento, dismorfismo facial, macrocefalia, deficiência intelectual e obesidade	Desconhecida	19q11.05–q13.2 (tamanho variável)	Sim

Sem nome 18	Deficiência intelectual, atraso de desenvolvimento, mutismo seletivo, características faciais específicas, perda auditiva neurossensorial, rim único (direito), útero didelfo e obesidade	Desconhecida	20p11.2–p13 (dup); 20p13.pter (del)	Não
Sem nome 19*	Atraso psicomotor grave, problemas de comportamento, afasia, microcefalia, regurgitação, púrpura trombocitopênica idiopática, obesidade, olhos profundos, cantos da boca caídos, orelhas displásicas e queixo pequeno	Desconhecida	21q22	Sim
Sem nome 20	Deficiência intelectual, macrocefalia grave, obesidade, características faciais específicas, mãos e pés grandes, idade óssea avançada, anomalias cerebrais incluindo atrofia do córtex frontal	Desconhecida	22q13	Sim
Sem nome 21	Macrocefalia, peso ao nascer normal seguido de obesidade, atraso de desenvolvimento variável e características faciais específicas	Autossômica dominante	Desconhecida	Sim
Sem nome 22	Atraso de crescimento, obesidade, hérnia inguinal/umbilical, criptorquidia, dedos afunilados, contraturas, pés tortos	Associada ao cromossomo X	Desconhecida	Sim
Sem nome 23	Obesidade, epifisiólise da coxa, deficiência intelectual, anquilose dos polegares	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Sem nome 24	Baixa estatura, obesidade, testa inclinada e estreita, orelhas pequenas, nariz estreito com ponte proeminente e septo longo, lábio superior curto, mandíbula recuada, membros curtos com braquidactilia, clinodactilia dos dedos mínimos	Autossômica recessiva	Desconhecida	Sim
Sem nome 25	Hidrocefalia congênita, deficiência intelectual, baixa estatura, obesidade e hipogonadismo	Associada ao cromossomo X recessiva	Desconhecida	Sim
Sem nome 26	Baixa estatura, obesidade, nariz bulboso, microretrognatismo, braquidactilia, hiper mobilidade das juntas, deficiência intelectual	Desconhecida	Desconhecida	Sim

Sem nome 27	Hipotireoidismo autoimune na adolescência, aumento da hipófise, obesidade e resistência à insulina	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Sem nome 28	Retinose pigmentar, hipogonadismo, deficiência intelectual, surdez neurossensorial, intolerância à glicose e obesidade	Autossômica recessiva	Desconhecida	Não
Sem nome 29	Microftalmia, coloboma, obesidade, hipogonadismo e deficiência intelectual	Autossômica dominante	Desconhecida	Não
Sem nome 30*	Características faciais específicas, obesidade, fendas labial e palatina, deficiência de hormônio de crescimento e deficiência intelectual	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Sem nome 31	Dismorfismo craniofacial, baixa estatura, obesidade relativa, surdez neurossensorial, manchas de pele multipigmentadas, deficiência intelectual grave	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Sem nome 32	Hipogonadismo, ginecomastia, deficiência intelectual, obesidade e baixa estatura	Associada ao cromossomo X	Desconhecida	Sim
Sem nome 33	Deficiência intelectual moderada, dismorfismo facial leve, obesidade, hipermetropia e anomalias capilares	Desconhecida	Desconhecida	Não
Sem nome 34	Deficiência intelectual, morfologia facial incomum, anomalias nas mãos, microcefalia, baixa estatura e obesidade	Autossômica recessiva	Desconhecida	Não
Sem nome 35*	Deficiência intelectual, baixa estatura, anomalias secundárias, obesidade e dificuldade de fala	Desconhecida	Desconhecida	Sim
Sem nome 36	Obesidade, hipotireoidismo congênito, enterocolite neonatal, hipertrofia biventricular cardíaca, craniostenose e atraso de desenvolvimento	Desconhecida	Desconhecida	Sim

Fonte: Kaur *et al.* (2017).

ANEXO C

Tabela C1: Informações acerca de genes da forma monogênica da obesidade

Nome do gene (símbolo do gene)	Localização cromossômica (versão 38 do genoma humano) - cromossomo: posição inicial...posição final	Tecido de expressão	Locus próximo identificado por GWAS (index SNP)	Papel do gene/produto gênico na regulação do consumo de alimento
Adenilato ciclase 3 (ADCY3)	2: 24.819.168...24.920.236	Células do cílio primário	rs6545814	Perturbação do cílio primário em neurônios altera o equilíbrio energético; importante para o funcionamento correto da proteína MC4R
Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)	11: 27.654.893...27.722.030	Cérebro	rs925946	Regulação da plasticidade sináptica
Quinase supressora da proteína Ras 2 (KSR2)	12: 117.453.012...117.968.990	Todos	rs56214831	Interfere no consumo e gasto de energia via AMPK.
Leptina (LEP)	7: 128.241.201...128.257.629	Adiposo	rs10487505	Quantidade em circulação é proporcional à quantidade de células adiposas e, quando abaixo de nível mínimo, sinaliza resposta à fome
Receptor da leptina (LEPR)	1: 65.420.652...65.641.559	A isoforma longa, responsável pela sinalização via leptina, é expressa principalmente no hipotálamo	rs11208659	Intermediação da função neuroendócrina da leptina
Receptor da melanocortina 4 (MC4R)	18: 60.371.062...60.372.775	Sistema nervoso central	rs17782313	Intermedia o apetite e funções do sistema nervoso autônomo
Proteína acessória do receptor de melanocortina 2 (MRAP2)	6: 84.032.621...84.146.278	Todos, com maior expressão no cérebro	-	Auxilia no transporte do receptor MC4R para a superfície da célula
Receptor tirosina-quinase neurotrófico (NTRK2/TRKB)	9: 84.668.458...85.027.070	Cérebro	rs10868215	Receptor do BDNF, intermedia a plasticidade neural sinalizada por ele

Proteína precursora da convertase subtilisina/kexina tipo 1 (PCSK1)	5: 96.390.333...96.433.248	Sistema endócrino, com maior expressão no cérebro	rs6235	Processamento da proteína POMC
Proteína de interação de domínio homólogo pleckstrina (PHIP)	6: 78.934.419...79.078.294	Todos	-	Regulação da transcrição do gene POMC
Pró-opiomelanocortina (POMC)	2: 25.160.860...25.168.580	Hipotálamo, Núcleo do Trato Solitário (NTS), pele, glândulas adrenais, hipófise e outros tecidos	rs6545975	Processado em melanocortina para sinalizar ligando-se ao receptor MC4R.
Proteína adaptadora 1 de domínio SH2B (SH2B1)	16: 28.846.606...28.874.205	Todos	rs7498665	Continuidade da sinalização da via da leptina após ligação da leptina ao seu receptor
Fator de transcrição <i>single-minded 1</i> (SIM1)	6: 100.385.009...100.464.929	Hipotálamo, rins e tecido adiposo	rs6907240	Importante para o desenvolvimento do núcleo paraventricular e expressão adequada do receptor MC4R e outras proteínas
Neuropeptídeo Y (NPY)	7: 24.284.190...24.291.862	Cérebro, próstata e esôfago	-	Neuropeptídeo importante para a estimulação do apetite
Proteína Agouti de sinalização (ASIP)	20: 34.241.423...34.269.344	Ovário, coração e epidídimos	-	Antagonista do receptor da melanocortina MC4R

Fonte: Adaptado de Loos & Yeo (2021), Masood & Moorthy (2023) e Pigeyre *et al.* (2016).

ANEXO D

Laboratório de Diversidade Genética Humana

PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA À PARTIR DE FLUIDOS CORPORAIS
Kit Puregene DNA Ver Handbook: HB-0326-004_HB_Puregene_DNA_0122_WW.pdf
Protocolo original: Protocolo de Extração - Qiagen Pure - Gene Fluido Corporal - LDGH Escrito e adaptado por: Gabriel Batista e Karwhory Wallas Responsável: Julia Duarte Data: Março/2023

Materiais necessários:

1. Equipamentos de Proteção Individual (máscara, luvas, óculos de proteção e jaleco).
2. Pipetas e ponteiros (10, 50, 200 e 1000 µL) **COM** filtro.
3. Equipamentos (vórtex, 2 banhos-maria, *shake*).
4. Descarte de ponteiros, descarte para amostras biológicas (com hipoclorito) e descartex.
5. Caneta para identificação dos tubos.
6. 2 Tubos de 1,5 mL por amostra.
7. 1 tubos falcon de 15 mL (para isopropanol).
8. 3 tubos de 2 mL (para solução de lise, álcool 70%).
9. Racks: para os tubos *ependorf*, para os tubos falcons e para flutuar no banho-maria.
10. Amostras em meio estabilizante.

Solução	Para uma amostra (µL)	Para __ amostras
Amostra	250	
<i>Solução de Lise Celular</i>	200	
Proteinase K	3	
RNAse	3	
<i>Solução de Precipitação de Proteína</i>	200	

Glicogênio	0,5	
Isopropanol	300	
Etanol 70%	300	
<i>DNA Hydration Solution</i>	50-100	

Antes de começar o 1º dia de extração:

1. Ligue o banho-seco a 55 °C.
2. Separe e identifique os tubos para cada amostra.
3. Aliquote Sol. Lise Celular e PK conforme tabela acima.

Extração:

- Primeiro dia:

1. Centrifugue por 10 min a 3000 rpm.
2. Remover o sobrenadante sem deslizar o *pellet*.
3. Adicionar 1 mL de TE para ressuspensão das células.
4. Centrifugue por 5 min a 2000 rpm.
5. Remover o sobrenadante sem deslizar o *pellet*.
6. Adicionar 800 uL de TE.
7. Vortexar brevemente a amostra.
8. Em um tubo de 1,5 mL adicionar 200 µL de Solução de Lise Celular (*Cell Lysis Solution*) e 200 µL de amostra.
9. Adicione 3 µL de Proteinase K e misture por inversão 25 vezes.
10. Incubar a 55°C *overnight*.

Antes de começar o 2º dia de extração:

1. Ligue o banho-seco a 37 e 65 °C.
2. Pegue gelo na caixa de isopor.
3. Separe e identifique os tubos para cada amostra.
4. Aliquote RNase, Sol. Precip. Prot., Isopropanol, Etanol 70% e Sol. Hidrat. DNA conforme tabela inicial.
5. Coloque o isopropanol no freezer.
6. Adicione água sanitária no frasco de descarte.

- Segundo dia:

11. Adicionar 3 µL de RNase e misture por inversão 25 vezes.
12. Incubar a 37°C por 15 min.
13. Incubar por 1 min em gelo ou freezer.

14. Adicionar 200 μL de Solução de Precipitação de Proteína (*Protein Precipitation Solution*).
15. Vortexar vigorosamente em velocidade alta por 20 segundos.
16. Incubar por 5 min em gelo ou freezer.
17. Centrifugar por 3 min a 16000 RCF. Obs.: Se o *pellet* de proteínas não estiver bem formado e fixado ou se a solução estiver turva, refaça os passos 9 e 10.
18. Em outro tubo de 1,5 mL, adicionar 0,5 μL de glicogênio em cada tubo contendo 300 μL de Isopropanol.
19. Com cuidado para não deslocar o *pellet*, com uma pipeta transferir o sobrenadante para o tubo contendo 300 μL de Isopropanol+0,5 μL de glicogênio.
20. Misturar suavemente por inversão 50 vezes. Logo em seguida, visualizar o DNA precipitado.
21. Centrifugar por 5 min a 16000 RCF.
22. Com cuidado para não deslocar o *pellet*, descartar o sobrenadante invertendo o tubo.
23. Secar o tubo cuidadosamente em um papel absorvente limpo.
24. Adicionar 300 μL de Etanol 70% e misture por inversão no máximo 10 vezes.
25. Centrifugar por 2:30 min a 16000 RCF.
26. Com cuidado para não deslocar o *pellet*, descartar o sobrenadante invertendo o tubo.
27. Secar o tubo cuidadosamente em um papel absorvente limpo.
28. Deixar o tubo secar aberto (aproximadamente 30-40 min).
29. Adicionar 50-100 μL de Solução de Hidratação de DNA (*DNA Hydration Solution*).
30. Incubar a 65°C por 1 hora.
31. Incubar as amostras em temperatura ambiente *overnight* (se possível com agitação).

- Terceiro dia:

32. Remover as amostras do agitador.
33. Identificar novos tubos com tampas rosqueadas.
34. Transferir as amostras para os tubos com tampas rosqueadas.
35. Centrifugar as amostras rapidamente e armazenar a -20°C ou -80°C.

Após o término da extração:

1. Quantifique o DNA da amostra por NanoDrop (Protocolo NanoDrop 2000) ou Qubit (Protocolo Qubit).
2. Limpe a centrífuga, pipetas, bancada e banho-seco.
3. Não deixe vestígios

ANEXO E

PROCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA À PARTIR DE FLUIDOS CORPORAIS

Solução	Para uma amostra (μL)	Para __ amostras
<i>Solução de Lise Celular</i>	1300	
Proteinase K	10	
Acetato de amônio + EDTA	500	
Isopropanol	540	
Etanol 70%	2000	
TE+EDTA	100	

Extração:**- Primeiro dia:**

1. Centrifugue por 10 min a 3000 rpm.
2. Remover o sobrenadante sem deslizar o *pellet*.
3. Adicionar 1 mL de TE para ressuspensão das células.
4. Centrifugue por 5 min a 2000 rpm.
5. Remover o sobrenadante sem deslizar o *pellet*.
6. Vortexar vigorosamente o *pellet* por 5 s.
7. Adicionar 1300 μL de solução de lise celular (10 mM Tris (pH 8,0), 0,5% SDS, 5 mM EDTA).
8. Adicione 10 μL de Proteinase K (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) (20mg/mL)
9. Vortexar em velocidade média por 5 s.
10. Incubar a 55°C *overnight*.

- Segundo dia:

11. Transfira 1,4 mL da solução para um novo tubo de microcentrífuga de 2 mL.
12. Adicione 500 μL da solução 8M de acetato de amônio e 1 mM de EDTA.
13. Centrifugue por 10 min a 17000 g.

14. Transferir 900 μL do sobrenadante a dois novos tubos de microcentrífuga de 1,75 mL contendo 540 μL de isopropanol.
15. Misture por inversão suave 20 vezes.
16. Centrifugue por 5 min a 17000 g.
17. Descarte o sobrenadante.
18. Seque o tubo cuidadosamente em um papel absorvente limpo.
19. Adicione 2000 μL de etanol 70% e misture por inversão.
20. Centrifugue por 5 min a 17000 g.
21. Com cuidado para não deslocar o *pellet*, descarte o sobrenadante.
22. Seque o tubo cuidadosamente em um papel absorvente limpo.
23. Deixe o tubo secar aberto (de 45 a 60 min).
24. Ressuspender o DNA com 100 μL de tampão TE [10 mM Tris (pH 7,8) e 1 mM EDTA].

Após o término da extração:

1. Limpe a centrífuga, pipetas, bancada e banho-seco.
2. Não deixe vestígios.