

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Enfermagem

Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde

Lorena Medeiros Batista

**OBESIDADE E POLIMORFISMOS DOS GENES *MC4R*, *NRXN3* E *LYPLAL1*,
ASSOCIADOS AOS DESFECHOS CLÍNICOS DE PACIENTES COM COVID-19**

Belo Horizonte

2022

Lorena Medeiros Batista

**OBESIDADE E POLIMORFISMOS DOS GENES *MC4R*, *NRXN3* E *LYPLAL1*,
ASSOCIADOS AOS DESFECHOS CLÍNICOS DE PACIENTES COM COVID-19**

Versão final

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, do curso de Nutrição Clínica e Experimental, como parte das exigências à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Bastos Rodrigues

Belo Horizonte

2022

Batista, Lorena Medeiros.
B333o Obesidade e Polimorfismos dos Genes MC4R, NRXN3 E LYPLAL1, associados aos desfechos clínicos de pacientes com COVID-19 [manuscrito]. / Lorena Medeiros Batista. - - Belo Horizonte: 2021.
74f.: il.
Orientador (a): Luciana Bastos Rodrigues.
Área de concentração: Nutrição e Saúde.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Obesidade. 2. COVID-19. 3. SARS-CoV-2. 4. Receptor Tipo 4 de Melanocortina. 5. Lisofosfolipase. 6. Dissertação Acadêmica. I. Rodrigues, Luciana Bastos. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. III. Título.

NLM: QU 248

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697

Biblioteca J. Baeta Vianna - Campus Saúde da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENFERMAGEM
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E SAÚDE

FOLHA DE APROVAÇÃO

"OBESIDADE E POLIMORFISMOS DOS GENES MC4R, NRXN3 E LYPLAL1, ASSOCIADOS AOS DESFECHOS CLÍNICOS DE PACIENTES COM COVID-19"

LORENA MEDEIROS BATISTA

Dissertação de Mestrado submetida em **25 de março de 2022** à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em NUTRIÇÃO E SAÚDE da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em NUTRIÇÃO E SAÚDE, área de concentração NUTRIÇÃO E SAÚDE, linha de pesquisa Nutrição Clínica e Experimental.

Aprovada pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Luciana Bastos Rodrigues - Orientador

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof(a). Ann Kristine Jansen

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Luiz Armando Cunha De Marco

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte, 13 de maio de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Armando Cunha de Marco**, Coordenador(a) de curso de pós-graduação, em 13/05/2022, às 13:58, 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 **Ann Kristine Jansen**, Professora do Magistério Superior, em 13/05/2022, às 15:39, 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 **Luciana Bastos Rodrigues**, Professora do Magistério Superior, em 17/05/2022, às 09:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º

17/05/2022 09:23

SEI/UFMG - 1455484 - Folha de Aprovação



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?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 1455484 e o código CRC DESD8C3D.

Referência: Processo nº 23072.209638/2022-90

SEI nº 1455484

RESUMO

INTRODUÇÃO: A COVID-19, causada pelo coronavírus SARS-CoV-2 resultou em altas taxas de transmissão e mortalidade, provocando a pandemia do século XXI, a qual perdura até os dias atuais. A presença de doenças crônicas, como a obesidade, têm sido apontada como fator de risco para o desenvolvimento da forma grave da doença, que inclui complicações metabólicas relacionadas à inflamação e disfunções orgânicas. Polimorfismos nos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 têm sido associados à obesidade, porém ainda não foram investigados no contexto da COVID-19. **OBJETIVO:** Avaliar a associação da obesidade e de padrões de polimorfismos genéticos em genes alvos com os desfechos clínicos da COVID-19. **MÉTODOS:** Estudo transversal retrospectivo tipo caso-controle. Pacientes diagnosticados com COVID-19 foram recrutados do Hospital Eduardo de Menezes de Belo Horizonte, MG, no período de agosto de 2020 a outubro de 2021. Dados clínicos foram coletados dos prontuários e os pacientes foram agrupados em três grupos de manejo clínico (GMC 1, 2 ou 3) de acordo com a gravidade da doença, sendo G1, para pacientes apresentando doença severa, com alta hospitalar em até 72h da admissão, G2, pacientes com doença severa e alta hospitalar após 72h de admissão e G3, pacientes com doença crítica internados em UTI e/ou óbito. Para caracterização da obesidade, os voluntários foram classificados em 3 grupos de acordo com o IMC, sendo eles, sobrepeso $IMC \geq 25-29,9kg/m^2$, obesos $IMC \geq 30kg/m^2$ e grupo controle $IMC \geq 18,5-24,9kg/m^2$. Amostras de DNA extraídas do sangue periférico dos pacientes foram utilizadas para análise de polimorfismos nos genes alvos: MC4R (*rs17782313*), NRXN3 (*rs10146997*) e LYPLAL1 (*rs4846567*), através da técnica de discriminação alélica. **RESULTADOS:** A amostra foi composta por 108 sujeitos, dos quais 93% apresentaram alguma comorbidade, sendo o excesso de peso presente em 67% dos pacientes. Foi observado que 78 % dos pacientes obesos classificaram-se no grupo GMC 3, além de representarem o grupo com maior tempo de internação hospitalar, $p < 0,05$. Dos pacientes que foram a óbito, a maioria possuía alguma comorbidade, sendo a obesidade e o sobrepeso presentes em 59% e 4,9% dos pacientes, respectivamente, $p < 0,05$. Não foi observada associação entre os polimorfismos estudados com o pior desfecho clínico da doença. **CONCLUSÃO:** Detectamos associação entre obesidade e sobrepeso aos piores desfechos clínicos da COVID-19 na amostra estudada. Entre as variantes genéticas estudadas não foram encontradas associações com o pior prognóstico da COVID-19.

Palavras-chaves: Obesidade. COVID-19. SARS-CoV-2. MC4R. NRXN3. LYPLAL1.

ABSTRACT

INTRODUCTION: COVID-19, caused by the SARS-CoV-2 coronavirus resulted in high transmission and mortality rates, causing the pandemic of the 21st century, which continues to this day. The presence of chronic diseases, such as obesity, has been pointed out as a risk factor for the development of the severe form of the disease, which includes inflammation-related metabolic complications and organ dysfunctions. Polymorphisms in MC4R, NRXN3 and LYPLAL1 genes have been associated with obesity, but have not yet been investigated in the context of COVID-19. In this study we evaluated the possible association of obesity and genetic variants of these genes with COVID-19 outcomes. **OBJECTIVE:** To evaluate the association of obesity and patterns of genetic polymorphisms in target genes with the clinical outcomes of COVID-19. **METHODS:** A retrospective cross-sectional case-control study. Patients diagnosed with COVID-19 were recruited from Hospital Eduardo de Menezes in Belo Horizonte, MG, from August 2020 to October 2021. Clinical data were collected from medical records and patients were grouped into three clinical management groups (GMC 1, 2 or 3) according to disease severity, being G1, for patients presenting severe disease with hospital discharge within 72h of admission, G2, patients with severe disease and hospital discharge after 72h of admission and G3, patients with critical illness admitted to ICU and/or death. To characterize obesity, the volunteers were classified into 3 groups according to BMI, as overweight BMI ≥ 25 -29.9 kg/m², obese BMI ≥ 30 kg/m² and control group BMI ≥ 18.5 -24.9 kg/m². DNA samples extracted from the peripheral blood of patients were used for analysis of polymorphisms in the target genes: MC4R (rs17782313), NRXN3 (rs10146997) and LYPLAL1 (rs4846567), using the allelic discrimination technique. **RESULTS:** The sample was composed of 108 subjects, 93% of whom presented some comorbidity, and overweight was present in 67% of the patients. It was observed that 78% of obese patients were classified in the GMC 3 group, besides representing the group with the longest hospital stay, $p < 0.05$. Of the patients who died, most had some comorbidity, with obesity and overweight being present in 59% and 4.9% of the patients, respectively, $p < 0.05$. No association was observed between the polymorphisms studied with the worst clinical outcome of the disease. **CONCLUSION:** We detected an association between obesity and overweight to the worst clinical outcomes of COVID-19 in the studied sample. Among the genetic variants studied, no associations with the worse prognosis of COVID-19 were found.

keywords: Obesity. COVID-19. SARS-CoV-2. MC4R. NRXN3. LYPLAL1.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Tipos de obesidade..... | 20 |
| Figura 2 - Cascata de sinalização leptina-MC4R..... | 28 |
| Figura 3 - Delineamento experimental do estudo..... | 32 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Grupos de manejo clínico da COVID-19 de acordo com a WHO de 2020..... | 33 |
| Tabela 1 - Polimorfismos de nucleotídeo único utilizados na pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020-2021..... | 36 |
| Tabela 2 - Dados antropométricos e classificação nutricional dos participantes da pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020- 2021..... | 39 |
| Tabela 3 - Características dos participantes com excesso de peso da pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020-2021..... | 41 |
| Tabela 4 - Características do grupo de manejo clínico 3 (GMC 3) da pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020-2021..... | 42 |
| Tabela 5 - Características da população com desfecho de óbito - Belo Horizonte, MG - 2020-2021..... | 44 |
| Tabela 6 - Frequências genótípicas e alélicas dos tagSNPs de MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 dos pacientes obesos e não obesos da pesquisa- Belo Horizonte, MG - 2020- 2021..... | 45 |
| Tabela 7 - Características fenotípicas e resultados genótipos dos SNPs dos voluntários da pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020- 2021..... | 45 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------|--|
| A | Adenina |
| ACTH | Adrenocorticotropina |
| ADAM17 | Desintegrina e Metaloprotease 17 |
| AG | Ácidos Graxos |
| AgRP | Neuropeptídeo relacionado à Agouti |
| alfa-MSH | Melanócito alfa |
| Ang | Angiotensinas |
| Ang I | Angiotensina I |
| Ang II | Angiotensina II |
| Ang-(1-7) | Angiotensina 1-7 |
| Ang-(1-9) | Angiotensina 1-9 |
| Anvisa | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| beta-MSH | Melanócito beta |
| BHE | Barreira hematoencefálica |
| °C | Graus Celsius |
| C | Citosina |
| CAAE | Certificado de apresentação e apreciação ética |
| cAMP | Adenilato Ciclase |
| CC | Circunferência da Cintura |
| CCK | Colecistoquinina |
| <i>CD147</i> | <i>Cluster of Differentiation 147</i> |
| <i>COVID</i> | <i>Corona Virus Disease</i> |
| COVID-19 | Coronavírus 2019 |
| DCNT | Doenças Crônicas não Transmissíveis |
| DM2 | Diabetes Tipo 2 |
| DMV | Núcleo Motor dorsal do Vago |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| DPP4 | Inibidores da Dipeptidil peptidase-4 |
| E | Envelope |
| ECA2 | Enzima Conversora de Angiotensina 2 |
| <i>EDTA</i> | <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i> |
| <i>EHW</i> | Equilíbrio de Hardy-Weinberg |
| FAM | 6-fluorescein amidite |

| | |
|----------------|---|
| FHEMIG | Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais |
| <i>FTO</i> | <i>fat mass and obesity associated</i> |
| g | Gramma |
| gama-MSH | Melanócito gama |
| G | Guanina |
| GABA | Ácido gama-aminobutírico |
| GMC | Grupo de Manejo Clínico |
| GMC1 | Grupo de Manejo Clínico 1 |
| GMC2 | Grupo de Manejo Clínico 2 |
| GMC3 | Grupo de Manejo Clínico 3 |
| HE | Hemaglutinina Esterase |
| HEM | Hospital Eduardo de Menezes |
| HIV | Vírus da Imunodeficiência Humana |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| ICB | Laboratório do Instituto de Ciências Biológicas |
| <i>IL-6R</i> | Receptor de Interleucina 6 ou <i>Interleukin-6 receptor</i> |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| JAK | <i>Janus Tyrosine Kinase</i> |
| <i>LYPLAL1</i> | <i>Lysophospholipase-like 1</i> |
| M | Proteína da Membrana |
| MasR | Receptor mas |
| MC1R | Receptor 1 da melanocortina |
| MC2R | Receptor 2 da melanocortina |
| MC3R | Receptor 3 da melanocortina |
| MC4R | Receptor 4 da melanocortina |
| MC5R | Receptor 5 da melanocortina |
| MCRs | Receptores das Melanocortinas |
| <i>MHC I</i> | <i>Class I Major Histocompatibility Complex</i> |
| ml | Mililitro |
| µm | Micrometro |
| <i>mTOR</i> | Alvo de Rapamicina de mamíferos ou <i>Mammalian target of rapamycin</i> |
| N | Proteínas Nucleocapsídicas |
| ng | Nanograma |
| NK | Natural Killer |
| <i>NRXN3</i> | Neurexina 3 |
| NTS | Núcleo do Trato Solitário |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |

| | |
|------------------|--|
| PCR | <i>Polymerase Chain Reaction</i> |
| PHV | Núcleo paraventricular do hipotálamo |
| PNS | Pesquisa Nacional de Saúde |
| POMC | Pró-opiomelanocortina |
| Proteína S | Proteína Spike ou “S” |
| rcf | <i>Relative Centrifugal Force</i> |
| RNA | Ácido Ribonucleico |
| RT | Tempo real ou <i>real time</i> |
| RPM | Rotações Por Minuto |
| SARA | Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo |
| S1 | Subunidade 1 da proteína S |
| S2 | Subunidade 2 da proteína S |
| SARS-CoV-2 | Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| <i>SNP</i> | Nucleotídeo de Polimorfismo Único ou <i>single nucleotide polymorphism</i> |
| SpO ₂ | Saturação de oxigênio em sangue arterial |
| <i>STAT3</i> | <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i> |
| SUS | Sistema Único de Saúde |
| T | Timina |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |
| TMPRSS2 | Protease Transmembrana tipo 2 |
| <i>TNF</i> | Fator de necrose tumoral ou <i>tumor necrosis factor</i> |
| TNF- α | Fator de necrose tumoral alfa |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |
| Vf | Volume da solução final |
| Vi | Volume da solução inicial |
| VIC | 2,7-dimethoxy-4,5-dichloro-6-carboxyfluorescein |
| VM | Ventilação Mecânica |
| <i>WHO</i> | <i>World Health Organization</i> |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1 SARS-CoV-2..... | 15 |
| 1.1.1 SARS-CoV-2 e ECA2..... | 15 |
| 1.2 Obesidade..... | 17 |
| 1.2.1 Histórico: Evolução e Prevalência..... | 17 |
| 1.2.2 Fisiopatologia..... | 19 |
| 1.2.3 Doenças crônicas e Obesidade..... | 22 |
| 1.2.4 SARS-CoV e a Obesidade..... | 24 |
| 1.3 Biomarcadores da Obesidade..... | 26 |
| 1.3.1 Receptor 4 da melanocortina (MC4R)..... | 27 |
| 1.3.2 Neurexina 3 (NRXN3)..... | 29 |
| 1.3.3 Lysophospholipase-like1 (LYPLAL1)..... | 30 |
| 2. OBJETIVO..... | 30 |
| 2.1 Objetivo Geral | 30 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 31 |
| 3. MÉTODOS | 31 |
| 3.1 Local de estudo..... | 31 |
| 3.2 Caracterização do estudo, da amostra e dos aspectos éticos..... | 31 |
| 3.2.1 População alvo..... | 32 |
| 3.2.1.1 Grupos de manejo clínico..... | 33 |
| 3.2.2 Aspectos éticos..... | 34 |
| 3.3 Delineamento..... | 34 |
| 3.3.1 Amostra de sangue total periférico..... | 35 |
| 3.3.2 Extração do DNA e Genotipagem SNP..... | 36 |
| 3.3.2.1 Dos genes..... | 36 |
| 3.3.2.2 Genotipagem..... | 37 |
| 3.3.2.2.1 Diluição das amostras..... | 37 |
| 3.3.2.2.2 Discriminação alélica por RT PCR..... | 37 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3.3 Análise estatística..... | 38 |
| 4. RESULTADOS..... | 39 |
| 4.1 Caracterização da amostra..... | 39 |
| 4.2 Frequência de alelos e genótipos de SNPs..... | 44 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 46 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 53 |
| 7. REFERÊNCIAS..... | 55 |
| APÊNDICES..... | 74 |
| TCLE..... | 75 |
| ARTIGO..... | 79 |

1 INTRODUÇÃO

O novo coronavírus surgiu em dezembro de 2019, no continente asiático, na China, na capital da província de Hubei, em Wuhan.^{1,2} A princípio foi considerado um surto de pneumonia, posteriormente, no início do ano seguinte, em 30 de janeiro de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) caracterizou-o como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional.^{1,2}

No dia 11 de março de 2020, a nova cepa foi identificada como coronavírus 2019, causada pela síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2), sendo então outorgada como pandemia pela OMS.¹

A COVID-19 já acometeu mais de 500 milhões de pessoas no mundo, com registro de mais de 6 milhões de mortes.³ No Brasil, segundo dados epidemiológicos de abril de 2022, há mais de 30 milhões de casos notificados, com mais de 660 mil óbitos, deixando o Brasil na terceira posição de países com mais mortes, apresentando taxa de letalidade de 2,2 %.^{4,5}

A SARS-CoV-2 surge em meio a outra doença de grande proporção, a obesidade; com quase 2 bilhões de pessoas afetadas no mundo,^{6,7} com um crescimento histórico exponencial nos índices desde os anos 60.⁸⁻¹¹ Dados de 2020, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), indicam que no Brasil mais de 50% da população adulta encontra-se em excesso de peso.¹²

Tendo em vista o alcance de um contexto pandêmico, somado ao processo inflamatório subclínico crônico característico do excesso de peso,¹³ o sobrepeso e a obesidade tornam-se importantes vias de acesso à etiologia de outras doenças, como as crônicas não transmissíveis¹⁴⁻¹⁶ e as infecções virais, destacando-se a COVID-19.^{17,18} Dessa forma, é relevante considerar pesquisas que abarquem essas variáveis patológicas com intuito de contribuir para o meio científico e, conseqüentemente, para a qualidade de vida da população.

Assim, nos propusemos a investigar a associação de genes relacionados à obesidade com o desfecho clínico da COVID-19. Para isso, investigamos alterações nos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 em pacientes brasileiros acometidos com a COVID-19 e correlacionamos os achados genéticos com os desfechos clínicos.

1.1 SARS-CoV-2

Os Coronavírus (ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, sub família *Coronaviridae*, gênero *Betacoronavirus*)^{19,20} são vírus compostos por uma fita simples de ácido ribonucleico (RNA) de polaridade positiva.¹⁹ Sua estrutura genômica é formada por diferentes proteínas estruturais, incluindo: nucleocapsídeos (N), que estão ligadas ao RNA genômico no núcleo do vírus, proteína da membrana (M) e do envelope (E), que colaboram por intermédio de interações com proteínas virais à montagem e desenvolvimento do vírus, e a proteína Spike ou “S”, uma glicoproteína que envolve toda a camada externa da estrutura e permite a internalização, através da fixação à membrana e fusão, do vírus a célula hospedeira.^{21, 22, 23}

O processo de infecção ocorre a partir de uma proteína hospedeira, chamada protease transmembrana tipo 2 (TMPRSS2), a qual possibilita o processamento proteolítico do complexo proteína S viral ligada à enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2).²² A TMPRSS2 permite a clivagem da proteína S, formando subunidades (S1 e S2) e possibilitando a ativação da glicoproteína, com consequente ligação ao receptor por meio da ligação da subunidade S1 a ECA2, e a ancoragem da Spike à membrana e fusão da membrana promovida pela subunidade S2.²³

Na borda da membrana da célula, há a presença de uma proteína, a desintegrina e metaloprotease 17 (ADAM17), um dos principais componentes relacionados à disfunção do sistema renina-angiotensina, junto a ECA 2 e fatores genéticos associados a TMPRSS2.²⁴ Essa protease medeia características que configuram a resposta inata e ativação da cascata de coagulação, com a secreção de ECA 2, TNF- α (*Tumor Necrosis Factor alpha*) e IL-6R (*Interleukin-6 Receptor*).²⁴

O vírus SARS-CoV-2 infecta a célula, principalmente, pela ligação da proteína Spike do vírus ao receptor ECA2.²³

1.2 SARS-CoV-2 e ECA2

A ECA2 é uma proteína participante da via do Sistema Renina Angiotensina, presente na superfície das células de diferentes órgãos, como pulmão, coração, rim e tecido adiposo, onde atua como reguladora e conversora das angiotensinas (Ang).²⁵⁻²⁷

Ressalta-se que os peptídeos gerados, após a conversão, desempenham funções que podem interferir na funcionalidade e controle da homeostasia do organismo, afetando, a depender do potencial de expressão, positiva ou negativamente sistemas e órgãos.²⁷ Os efeitos de vasoconstrição, secreção do hormônio antidiurético e de aldosterona, referidos por Skov et al.²⁸ (2014), estão claramente associados ao desenvolvimento de enfermidades, como as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT).²⁸

As Ang I e II são geradas a partir da renina e da ECA, pelo sistema renina-angiotensina.^{25,26,23,29} Considerando o curso natural das funcionalidades do organismo, a conversão se dá de Ang I para Ang-(1-9) e de Ang II para Ang-(1-7).²⁶ Essa conversão possibilita os processos contra-regulatórios que delimitam os mecanismos inflamatórios que ocorrerão no organismo após a internalização do vírus e consequente desregulação da expressão de ECA2 na superfície das células do organismo.^{25,26}

A internalização do vírus na célula hospedeira promove, no citoplasma, a liberação do RNA viral.³⁰ O aumento dessa carboxipeptidase na superfície celular pode influenciar a gravidade da doença, permitindo a entrada do vírus na célula, desencadeando uma resposta inflamatória e imune.^{25,26}

O receptor ECA2, expresso pela célula epitelial alveolar do tipo II, é o responsável, majoritário, pela entrada do vírus no pulmão.³¹ O vírus se replica e, conseqüentemente, ativa o sistema imune mediante liberação de citocinas (neutrófilos, macrófagos e células dendríticas) pelos pneumócitos tipo II infectados.³¹

Os fatores inflamatórios possibilitam o aumento da permeabilidade vascular, recrutando mais células do sistema imune para o local da infecção, aumentando ainda mais a produção de interleucinas (IL6, IL1, IL8) e TNF (*Tumor Necrosis Factor*). Ocorre ainda maior infecção ao nível corpóreo com aumento da permeabilidade vascular, possibilitando que o vírus infecte outros órgãos, independente da proximidade, como intestino, coração, rins e cérebro.³¹ Zheng et al.²⁰ (2021) relatam que a patogênese está diretamente associada a elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias.

Portanto, à medida que o receptor ECA2 se liga ao vírus, a funcionalidade da ECA2 no organismo é reduzida, simultaneamente com a ativação de eventos agravantes que acarretam em disfunção orgânica celular e tecidual, com efeitos prejudiciais à saúde. Desse modo, dada a contextualização fisiopatológica da COVID-19 e de seus efeitos deletérios, sendo ainda uma doença emergente, de alta complexibilidade e com elevadas taxas de mortalidade, justifica-se a necessidade de mais estudos sobre a biologia da infecção e as suas consequências, além da verificação de suas relações, direta ou indiretamente, com outras doenças, como a obesidade.

1.2 Obesidade

1.2.1 Histórico: Evolução e prevalência

A prevalência da obesidade no Brasil e no mundo é descrita pelo processo de transição nutricional, caracterizado por um conjunto de mudanças dietéticas interligadas ao desenvolvimento econômico, distante de dietas saudáveis tradicionais e em direção a um padrão alimentar ocidentalizado, com alto consumo de alimentos processados e refinados; visto a larga oferta e o desenvolvimento das tecnologias alimentares em função da chegada da modernização e do poder da indústria alimentícia.^{10,11}

As principais causas para o aumento da prevalência de obesidade são a urbanização e mudanças culturais, incluindo o aumento do individualismo e do consumismo, também podem estar na base da transição da obesidade.¹¹ Os fatores hereditários — genética —, história familiar, diferenças étnicas, ambientes socioeconômicos e culturais, e os comportamentos em resposta a essas condições desempenham um papel dominante na prevenção, e/ou prevalência, da obesidade.^{32, 10, 14, 11, 7}

O *imprinting* metabólico, condição de programação metabólica delimitada por períodos pré-natal e neonatal em contexto genético e epigenético, também confere risco futuro a saúde do sujeito relacionado ao ganho de peso.¹⁰ O ganho excessivo de peso gestacional materno, o peso ao nascer, a supernutrição ou a desnutrição durante a vida fetal, a dieta materna durante a gravidez e lactação, e o período de duração do aleitamento materno são desencadeadores de vias que convergem em um maior risco de obesidade, seja durante a

infância como também na vida adulta, implicando em complicações metabólicas e doenças crônicas.¹⁰

As causas que norteiam as mudanças no contexto histórico da evolução e prevalência da obesidade estão interligadas aos processos de desenvolvimento econômico e social, embora os mecanismos de causa e efeito não estejam totalmente elucidados tendo em vista as diferenças sociais, culturais e de gêneros.^{33,10} Globalmente, os contextos de prevalência da obesidade estão relacionados com a conservação de identidades e padrões culturais estéticos, além das disparidades sociais associadas à renda, escolaridade e acesso à infraestrutura social, interligadas aos “desertos alimentares” — áreas de pobreza extrema, com acesso restrito a alimentação —, que comprometem a segurança alimentar e nutricional.^{33,34,10,35}

No último século, a renda manteve um papel central no desenvolvimento da obesidade pela população.^{9,11,34,36} Diante do aumento global da obesidade, e visto que a maior parte da população mundial vive em países onde o sobrepeso e a obesidade matam mais do que a desnutrição, os custos com a saúde geram impactos significativos, devido às hospitalizações e prescrições medicamentosas, com a estimativa de que cerca de bilhões por ano são gastos com saúde devido ao tratamento e condições relacionadas à obesidade.^{9,11,7}

A distribuição e intensidade dos indicadores de obesidade mundial é variável geograficamente, indicando a diversidade de aspectos que influenciam no ganho de peso.¹¹ Ao traçar uma linha do tempo, dos anos 60 até os tempos atuais, é possível afirmar que há uma constante ascendência de sujeitos obesos no mundo, na qual a prevalência mundial de excesso de peso aumentou nos últimos 50 anos.^{37,7} Os primeiros indícios de que a obesidade estava assumindo proporções epidêmicas originaram-se nos continentes Europeu e Norte Americano, mais especificamente nos Estados Unidos.^{37,7}

A obesidade é considerada um dos principais fatores de risco de mortalidade, associada à diminuição da expectativa de vida em 5 a 20 anos, sendo também provável causa de taxas de mortalidade por doenças cardiovasculares em diversos países, como o Brasil e os Estados Unidos.^{38,35,39} Dados epidemiológicos mostram que o índice de massa corporal (IMC) elevado teve seu percentual aumentado em 36,7% entre os anos de 2007 e 2017, e mais de 100% entre os anos de 1990 e 2017, sendo o responsável por mais de 4,5 milhões de mortes em todo o mundo, confirmando os indicativos de que a supernutrição emergiu como uma ameaça à saúde, levando mais pessoas a morte.^{35,39} No Brasil, entre 2006 e 2019 a prevalência

da obesidade seguiu as tendências mundiais, aumentando os percentuais de IMC elevado para 20,3%.⁴⁰

Destarte, a obesidade representa um desafio para a saúde global.¹¹ O aumento da prevalência da doença é um presságio para outras doenças na população mundial, sobrecarregando o sistema de saúde e gerando morbimortalidade.^{9, 10, 14, 35, 36}

A contenção dessa pandemia requer soluções a multiníveis, de forma integrada, desde a intervenção individual, com ações multidisciplinares, até uma ampla política de investimento científico, com atenção voltada, principalmente, às suas características fisiopatológicas que possuem determinantes potenciais de consequências danosas ao organismo, visto a interligação direta e indireta com outras doenças, como as DCNT.

1.2.2 Fisiopatologia

A obesidade é uma doença de ordem metabólica, funcional e genética, com uma estreita relação sociocultural e psicológica.^{41, 42, 14} É um fator de risco para as DCNT,¹⁴ sendo uma consequência crônica final do balanço energético, regulado pela junção de ações e mecanismos de dois sistemas: endócrino e central.^{43, 44}

Em condições obesogênicas, a ingesta alimentar e o gasto energético encontram-se desbalanceados, à inatividade física também é um fator característico dessas condições, que conduz à alteração do gasto energético diário junto a fatores que incluem a Taxa Metabólica Basal e a Termogênese Induzida pela dieta.^{41, 43, 44, 46}

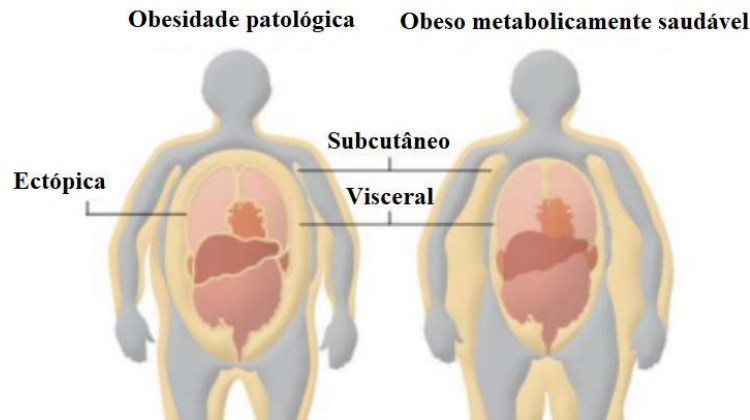
A alteração na qualidade e na quantidade dos alimentos ingeridos associada às mudanças no estilo de vida da humanidade que incluem desde a diferenciação do padrão alimentar, a urbanização, modernização, com inserção no mercado de trabalho e ocupações setoriais da agricultura para indústria, com conseqüente diminuição de esforço físico em vista a utilização da tecnologia e alteração das atividades de lazer influenciadas pela modernização, além dos fatores socioeconômicos, educacionais e emocionais (pressão de padrões estéticos, estresse, estigma), interferem diretamente no ganho de peso corporal.^{35, 10}

Além disso, entre outros aspectos, há ainda a associação da obesidade às características como sono inadequado, efeitos colaterais de medicamentos, diferenças biológicas que incluem microbiota, epigenética, e genética,^{42, 35} somado ao desequilíbrio do

controle neuroendócrino.⁴⁵⁻⁴⁸ Com uma estrutura tão complexa, a fisiologia e o comportamento individual são moldados por fortes fatores sociais e ambientais. Assim, considerando um ambiente obesogênico e estressores sociais, a obesidade é causada pela relação entre o sujeito e o ambiente onde está inserido.^{35, 10}

Fisiologicamente a obesidade pode ser dividida basicamente em duas categorias: a obesidade patológica e a metabolicamente saudável.⁴⁹ O que as diferenciam, além da inflamação (que inclui disfunção de adipócitos, remodelação e adipogênese limitada), é a localização, deposição, proporção e tipo de gordura.⁴⁹ Ambas possuem tecido adiposo¹ visceral e subcutâneo, porém se diferenciam em relação à proporção desses tecidos.⁴⁹ Na obesidade patológica a gordura visceral é proporcionalmente maior que a subcutânea, o contrário se vê na obesidade metabolicamente saudável, sendo a proporção de gordura subcutânea maior que a visceral.⁴⁹ A deposição ectópica de lipídio é uma das características principais descritas sobre a obesidade patológica.⁴⁹ Todas essas características do tecido adiposo branco no sujeito obeso estão ilustradas na Figura 1.

Figura 1. Tipos de obesidade



Fonte: Adaptado de Vishvanath & Gupta⁴⁹ (2019).

A inflamação provocada pela obesidade^{13,45,49} está intrinsecamente envolvida na etiologia de outras doenças, como diabetes e hipertensão.^{14,58,49} Visando conferir um estado de

¹ O tecido adiposo é um órgão multifacetado, metabolicamente ativo, endócrino, pois além de armazenar energia é responsável pela produção e secreção de proteínas, peptídeos bioativos e hormônios,⁴⁶⁻⁴⁸ como as adipocinas,¹⁴ com ação autócrina e parácrina,⁴⁹ que são equivalentemente proporcionais a quantidade de tecido adiposo.¹⁴ Dessa forma, esse órgão excretor,⁵⁰⁻⁵² participa de atividades metabólicas e do equilíbrio energético.^{53, 61,14,58} Além das adipocinas, o angiotensinogênio também é liberado por esse órgão,⁵⁰⁻⁵² fazendo-se um importante provedor extra-hepático dessa proteína, que têm sua regulação ligada diretamente a fatores nutricionais, visto que quanto maior a distribuição de gordura maior será a expressão de angiotensinogênio e, conseqüentemente, maior será seus níveis plasmáticos.⁵⁰⁻⁵²

homeostase, ocorre uma resposta inflamatória, caracterizada por uma reação aguda a infecções ou lesões teciduais,⁵⁸⁻⁶⁰ com intensa ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona.¹³

A lesão tecidual se dá pela expansão do tecido adiposo branco (local de troca, deposição e mobilização de gordura a partir de sua microvasculatura) que permite, considerando uma refeição de alta carga lipídica, a infiltração de leucócitos que confere o início da resposta inflamatória; aumentando o estresse oxidativo e provocando disfunção microvascular crônica.⁶⁰

Ao nível microvascular, as trocas são prejudicadas em decorrência da alteração da homeostase do organismo advinda da disfunção endotelial provocada pela deposição de gordura perivascular.⁶⁰ Ou seja, a remoção de produtos residuais (dióxido de carbono, pelos pulmões, ou adipocinas, pelo tecido adiposo, e toxinas urêmicas, pelos rins) estará prejudicada, aumentando o período de exposição do organismo a esses compostos e trazendo, ainda mais, malefícios a microvasculatura dos órgãos.⁶⁰

O depósito de gordura visceral acarreta na hipertrofia dos adipócitos, da qual é descrito um crescimento de 50 micrometro (μm) até 150-200 μm .⁶⁰ Essa expansão dos adipócitos promove alterações na difusão do oxigênio e na densidade capilar do tecido, com consequente hipóxia, um dos indutores da inflamação na obesidade.^{60,49}

A hipóxia se desenvolve à medida que o tecido adiposo se expande devido à hipoperfusão relativa desse tecido em crescimento, essa condição de hipertrofia resulta no aumento do consumo de oxigênio, no qual o suprimento desse gás é insuficiente à manutenção da função celular.^{61,49,62,63} A escassez de oxigênio induz a uma redução na adiponectina (adipocina anti-inflamatória) e um aumento na liberação de leptina (adipocina pró-inflamatória) de adipócitos, modulando essas secreções e inferindo em um desarranjo metabólico característico da obesidade metabolicamente não saudável.^{60,64,65}

A leptina e os seus receptores estão presentes em todos os tipos de células inflamatórias no pulmão, além de descreverem que o seu aumento prepara os leucócitos para elevar a secreção de citocinas inflamatórias e espécies reativas de oxigênio, que são liberadas por via endócrina, parácrina e autócrina no tecido adiposo.^{60,64}

A hiperleptinemia e a resistência à leptina (dessensibilização das células-alvo para sinalização da leptina), devido à alta produção de leptina pelo tecido adiposo, contribuem para

a diminuição da resposta imune e aumento da exposição a infecções virais na obesidade, contribuindo para inflamação de baixo grau.⁶⁵

Assim, com a mudança no perfil das adipocinas para pró-inflamatórias,^{60,64} a leptina promoverá a produção de citocinas pró-inflamatórias (como a IL-6, o TNF α e a IL-1) de forma autócrina, além de proporcionar a ativação de macrófagos, células dendríticas e natural killer que também produzirão essas citocinas.^{60,64} A diminuição da adiponectina, por sua vez, promoverá a produção de angiotensina II.^{60,64} Esse eventos irão propiciar um perfil pró-inflamatório ao tecido adiposo, com disfunção endotelial e resistência insulínica, comprometendo órgãos e tecidos.^{14,49,64}

Desse modo, a inflamação do tecido adiposo com conseqüente hipóxia são fatores envolvidos na fisiopatologia da obesidade de forma central e podem, por meio da liberação de adipocinas vasoativas e/ou inflamatórias, modular a função microvascular em todo o corpo.⁶⁰

Assim, a condição obesogênica resulta da interação de diferentes fatores genéticos, metabólicos, comportamentais e ambientais; sendo uma condição multifatorial e poligênica, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo.^{61,14,58}

Todos esses caminhos mecanicistas citados que apresentam um fator inflamatório importante colaboram para tornar a obesidade um fator diretamente interligado à morbimortalidade pela COVID-19, e também por ser uma doença crônica, metabolicamente complexa e indutora de fatores comórbidos, reconhecida e tratada como problema de saúde pública, em países desenvolvidos e em desenvolvimento.^{66-68,17}

1.2.3 Doenças crônicas e obesidade

Como mencionado, a elevada taxa de adiposidade está diretamente relacionada às DCNT, afetando órgãos como rim, coração, pulmão e cérebro.⁶⁰ Os mecanismos que predisõem essa relação estão envolvidos nas alterações do sistema renina angiotensina, do tecido adiposo visceral, da função endotelial, da síntese de adipocinas, da resposta inflamatória e hormonal, das atividades mecânicas e do sistema nervoso simpático.^{28, 14, 60}

O aumento nos níveis de angiotensinogênio e Ang I, que compõem a via clássica do sistema renina angiotensina formando Ang II, estão relacionados aos distúrbios metabólicos, como a obesidade.²⁸ Em obesos, essa angiotensina formada em excesso é capaz de promover

efeitos fisiopatológicos, como a vasoconstrição, em diferentes tecidos e órgãos, como rins, sistema cardiovascular, tecido muscular e córtex supra-renal, desencadeando outras doenças, como a hipertensão.²⁸

Uma cascata de eventos ocorrem a partir da ingestão de uma dieta rica em lipídios, da qual resulta na alteração da função microvascular e da composição do tecido adiposo visceral (influindo diretamente na morfologia dos adipócitos, hipertrofiando-os).⁶⁰ O aumento do tamanho das células armazenadoras de gordura implica em disfunção endotelial corporal, influenciando a estrutura vascular e a inflamação perivascular, com deposição de gordura.⁶⁰

A alta adiposidade será então refletida na síntese elevada de adipocinas, levando a produção de macrófagos e outras células inflamatórias pelo tecido adiposo, resultando em uma resposta inflamatória, visto que a perfusão e a função do órgão estará prejudicada.^{14,60} Assim, essa alta adiposidade ativa, de forma direta e indireta, as citocinas pró-inflamatórias, com consequente prejuízo à sinalização de insulina e aumento da sua resistência, resultando em diabetes tipo 2 (DM2) e, consequentemente, podendo estar associada a insuficiência cardíaca congestiva (ICC), acidente vascular encefálico (AVE) e doença renal crônica (DRC).^{14,60}

Ressalta-se que a sinalização prejudicada de insulina também está associada a doença hepática gordurosa não alcoólica, esteatose hepática e cirrose.¹⁴ Essa disfunção na sinalização insulínica eleva a atividade simpática do sistema nervoso e do sistema renina angiotensina aldosterona, resultando em hipertensão arterial sistêmica e pulmonar, doenças associadas à doença arterial coronária e, consequentemente, em ICC, AVE e DRC.¹⁴

A alta produção lipídica também promove a hidrólise de triglicerídeos com consequente liberação de ácidos graxos livres, o que acarreta em três caminhos principais; sinalização prejudicada de insulina (levando a DM2, como citado anteriormente), lipotoxicidade — associada a doença hepática gordurosa não alcoólica, esteatose hepática, cirrose, ICC, AVE e DRC —, e dislipidemia, associada a doença arterial coronária.^{14, 69}

O estresse mecânico também está relacionado a alta adiposidade, associado à compressão renal, com consequente hipertensão arterial sistêmica e pulmonar, mais o aumento tecidual do palato mole — relacionado à apneia obstrutiva do sono —, em adição com a carga mecânica aumentada nas articulações (associada à osteoartrite) e a elevada

pressão intra abdominal, associada ao esôfago de Barrett, ao adenocarcinoma esofágico e a doença do refluxo gastroesofágico.¹⁴

Diante do exposto, é notório os malefícios da inflamação característica do estado obeso, que incide em má qualidade de vida em todos os aspectos para o sujeito; podendo piorar os desfechos de possíveis intercorrências sazonais, como a gripe, e outras doenças virais e infecciosas ou ainda levar a morte por negligência e aparecimento de DCNT devido as suas complicações.^{65, 70-72}

1.2.4 SARS-CoV e a Obesidade

Há uma ligação proeminente entre a obesidade e as demais doenças já citadas, sendo o estado obeso uma doença fortemente vulnerável a COVID-19, destaca-se assim a interconexão dessas pandemias.^{66,68} Desse modo, a obesidade é considerada uma comorbidade de relevância ao contexto pandêmico, sendo um fator de risco para a aquisição da COVID-19 e também das condicionantes complicadoras da doença do SARS-CoV-2.⁶⁶

Colleluori et al.⁷¹ (2022), ao estudarem inflamação da gordura visceral e a COVID-19, conjecturaram sobre um prognóstico desfavorável, com resultados adversos, em pacientes obesos diagnosticados com a COVID-19. A inflamação de ambas as doenças é a precursora da desestabilização que ocorre para propagação de eventos não desejáveis ao organismo, como a inflamação do tecido visceral mais intensa; que resulta na piora da COVID-19, e conseqüentemente, do estado clínico do paciente.⁷¹ Essa inflamação somada aos eventos adversos, dado o fator comórbido da obesidade,^{60,14,27,66,68} também são prejudiciais à infecção por COVID-19.⁶⁶

Pode se considerar como um modelo fisiopatológico da interlocução dessas pandemias a inflamação com sinalização e ativação de citocinas mais a disponibilidade de receptores primários e secundários na superfície celular do tecido adiposo inflamado, facilitando a infecção pelo vírus SARS-CoV-2, demonstrando assim a associação da obesidade aos piores desfechos da COVID-19.^{72,73,70,64,74}

A indução de um estado inflamatório promove a sinalização da IL-6 e da proteína STAT3 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 3*), que atuam como determinantes críticos da doença.⁷² Três condicionantes-chaves estão associadas a infecções virais no

processo fisiopatológico da obesidade e da COVID-19; A inflamação, com consequente elevação de níveis de IL6 e TNF- α somada ao decréscimo da presença das células natural killer (NK) com função citotóxica afetada pelo estado obeso e a eliminação prejudicada das células expressoras de MHC I (complexo principal de histocompatibilidade classe I), complexo capaz de codificar proteínas para reconhecer e expressar antígenos ao sistema imune adaptativo, realizando a apresentação de peptídeos antigênicos aos Linfócitos T CD8+, por exemplo.⁷²

Em situação de estresse o tecido adiposo compromete a atividade das células NK e expressa, além da ECA2, a DPP4 (Dipeptidil peptidase-4), a CD147 (*cluster of differentiation 147*) e a protease furina de forma exacerbada, facilitando a entrada do SARS-CoV-2 nas células.^{64,72,73} Essa exacerbação, além do fisiologicamente não saudável ao organismo, resulta na vulnerabilidade à infecção pelo SARS-CoV-2.^{72,73}

O complexo de ligação viral e celular pode ocorrer a partir da ligação do SARS-CoV-2 à DPP4, como também ao CD147, ambos considerados receptores alternativos para a ligação na superfície celular.⁷³ Ou seja, a alta expressão enzimática da DPP4 e proteica do CD147 resultam na possibilidade aumentada de entrada do vírus a célula.^{64,72,73}

Há duas características dos adipócitos que aumentam a duração da disseminação do vírus; a presença de ECA2 em sua superfície celular e a promoção da hiperativação do alvo de rapamicina de mamíferos (mTOR) em tecidos, envolvido com a resposta ao estresse e a sinalização de citocinas e hormônios, além de outras funções.⁷² Em junção a isso, apesar da literatura não demonstrar com exatidão as vias que interligam esses mecanismos, também é relatado a ausência do fator protetor cardiovascular e anti-inflamatório do eixo ECA2/Ang-1-7/MasR (ECA2 usa Ang II como principal substrato para produzir Ang-1-7), que exerce atividade vasodilatadora através do receptor mas (MasR).⁷²

Os mecanismos fisiopatológicos ocorrem conforme o depósito de gordura ectópica, com implicações diretas no desfecho clínico da COVID-19.⁷⁴ Há uma susceptibilidade do tecido adiposo a entrada e replicação do SARS-CoV-2, devido, principalmente, à maior expressão de ECA2 nesse tecido, considerando a gordura ectópica um reservatório proeminente de replicação viral.^{64,72,75,74} Desse modo, além do aumento de citocinas inflamatórias já previsto no tecido adiposo não saudável, a infecção aumenta ainda mais os

eventos inflamatórios trazendo efeitos prejudiciais ao organismo, como infarto do miocárdio ou morte cardíaca.⁷⁴

A interligação do tecido adiposo e da liberação viral extra pulmonar através dos adipócitos ocorre principalmente devido a expressão da ECA2, sendo os adipócitos de órgãos viscerais um reservatório para a replicação e montagem viral.^{64,74,75} A morte apoptótica e necrótica do vírus dentro dos adipócitos resulta em metainflamação e subsequente síndrome de embolia gordurosa em pacientes obesos com a COVID-19.⁶⁴ Fisiologicamente, é descrito que após a endocitose viral com posterior replicação do RNA viral, ocorre a exocitose de partículas virais livres para alcançar células saudáveis e órgãos viscerais com gordura ectópica, como o fígado.⁶⁴

As alterações inflamatórias que acontecem no tecido adiposo branco são adjuvantes do agravamento da COVID-19, em que o estado deletério em junção com a tempestade de citocinas, desencadeados pela intensa infiltração de células imunes e aumento das citocinas pró-inflamatórias, são os produtos da metainflamação, característica fisiopatológica da interligação da obesidade e da doença causada pelo vírus SARS-CoV-2.^{64,74,70}

Tendo em vista as conjunções desses mecanismos, da resposta inflamatória e imune em relação a entrada, replicação e reservatório viral no tecido adiposo, e ainda considerando os índices de mortalidade de ambas as doenças e seus complicadores na população mundial, é válido considerar estudos que interligam suas vias a fim de obter respostas mais assertivas para melhor compreensão da doença do vírus SARS-CoV-2.

1.3 Biomarcadores da Obesidade

Um biomarcador predispõe, de forma mensurável, a ocorrência do estado patológico em um organismo.⁷⁶ Um biomarcador genético irá delimitar áreas específicas em um genoma, onde serão expressos genes que indicam uma região de DNA (ácido desoxirribonucleico) para síntese proteica. Por sua vez, esses genes podem se dividir em duas categorias: dominante, que se manifestam em homozigose e heterozigose, e recessivo, que só se manifestam quando estão em homozigose — apresentando dois alelos iguais — .⁷⁶

Considerando a estrutura molecular do DNA, em um gene estará presente alelos, que corresponderão a qualquer uma das formas alternativas de um gene específico que está

localizado no mesmo *locus*, em um cromossomo homólogo, responsáveis por variações com característica geneticamente hereditária.⁷⁶

Assim, o DNA pode sofrer variações em sua estrutura, ou seja, mutações — alterações que ocorrem no material genético do organismo —. Essa variação genética pode ser vista a partir do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), que irá indicar a alteração de uma única base na sequência do DNA em um determinado local cromossômico. Essa alteração de base refere-se às bases nitrogenadas que compõem a estrutura do DNA; Adenina (A), Citosina (C), Guanina (G) e Timina (T). Essas trocas de bases são as condicionantes para se caracterizar um SNP como biomarcador de obesidade, por exemplo.⁷⁶

1.3.1 Receptor 4 da melanocortina (MC4R)

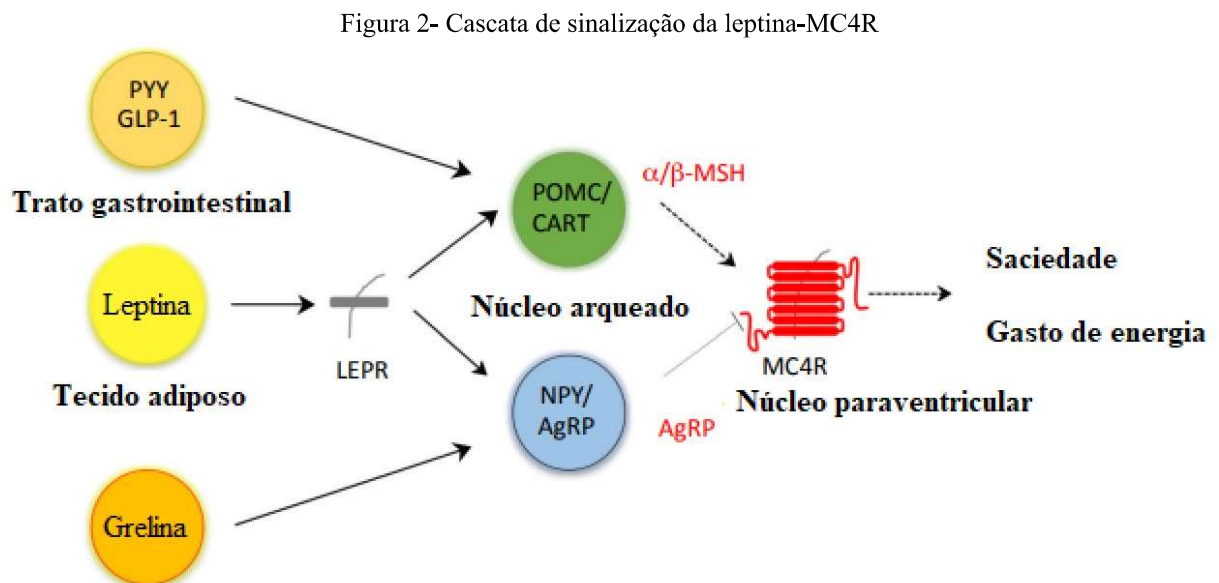
O MC4R é um receptor transmembranar,⁷⁷ que reveste a bicamada lipídica de toda extensão da membrana e atua como um receptor de melanocortinas.⁷⁸ A expressão do gene ocorre, principalmente, no hipotálamo, por meio da ativação de neuropeptídeos derivados da pró-opiomelanocortina.⁷⁹⁻⁸³ Sua ativação, pelo hormônio estimulador de melanócito alfa (alfa-MSH), interfere diretamente no requerimento do aporte energético, reduzindo-o.^{83,84}

A depender do estado nutricional do organismo, a leptina, hormônio de retroalimentação negativa sintetizada pelos adipócitos, flui pelo plasma sanguíneo ultrapassando a barreira hematoencefálica ligando-se ao seu receptor no núcleo do trato solitário.^{85,86} Essa ligação promove a sinalização da via janus tyrosine kinase (JAK), inibindo a expressão de um antagonista endógeno, o neuropeptídeo relacionado à Agouti (AgRP), e estimulando a síntese de pró-opiomelanocortina (POMC).⁸⁷⁻⁸⁹ Todo esse arranjo, que resulta na sinalização da POMC, irá, conseqüentemente, promover a liberação de alfa-MSH pelos neurônios melanocortinérgicos no hipotálamo.⁸⁷⁻⁸⁹

Os neurônios melanocortinérgicos são estimuladores das células adenohipofisárias secretoras; os melanotrofos, produtoras de melanotropina, e os corticotrofos, secretoras de adrenocorticotropina (ACTH).⁸⁶ Esses neurônios, advindos da clivagem da POMC, são também conhecidos como melanocortinas; ACTH, alfa-MSH, beta-MSH e gama-MSH.⁸⁶ Os peptídeos dessas melanocortinas estimulam a melanogênese, nos melanócitos e a síntese de esteroides, no córtex da adrenal.⁸⁶ A literatura indica cinco receptores das melanocortinas

(MCRs); MC1R, MC2R, MC3R, MC4R e MC5R.^{86, 90} Os MCRs estimulam a adenilato ciclase (cAMP) via transdução de sinais, e são amplamente distribuídos em tecidos periféricos e no sistema nervoso central (SNC).^{87,88} Dessa forma, os efeitos biológicos da melanocortina são mediados através da interação com a família dos receptores acoplados à proteína G,^{93,94} e o alfa-MSH atua sobre o MC4R, que é expresso nos neurônios melanocortinérgicos no hipotálamo inibindo a ingestão alimentar e aumentando o prejuízo energético, desempenhando um papel relevante na regulação da homeostase energética e na distribuição da gordura corporal.^{77,83,90}

A Figura 2 mostra a relação da homeostase energética e do MC4R, em que AgRP e POMC, presentes no núcleo arqueado hipotalâmico, são os dois neurônios que integram a via central da melanocortina, distribuindo as informações centrais ou periféricas de sinais hormonais e neurais.



α/β MSH: hormônio estimulador de melanócito alfa/beta; AgRP: neuropeptídeo relacionado à Agouti; CART: Transcrito regulado por cocaína e anfetamina; GLP-1: *glucagon-like peptide 1*; LEPR: Receptor de leptina; MC4R: receptor de melanocortina 4; NPY: neuropeptídeo Y; POMC: pró-opiomelanocortina; PYY: peptídeo YY.

Fonte: Kühnen, Krude & Biebermann⁹⁴ (2019).

Além do seu envolvimento na regulação da ingestão alimentar, uma mutação em sua estrutura, *rs17782313*, está ligada a homeostasia energética⁹⁴⁻¹⁰⁰ associada a obesidade e maior IMC.^{101, 102} Esse *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) se dá pela inversão dos nucleotídeos; Timina por Citosina.^{94, 100} A inclusão desse SNP na pesquisa se torna condizente com os objetivos buscados, pois corresponde a um gene que está estritamente relacionado à

obesidade.^{14, 96}

1.3.2 Neurexina 3 (NRXN3)

O gene NRXN3, da família das neurexinas, possui 24 exons e se posiciona no cromossomo humano em 14q24-q31.1.¹⁰³ Com 1.826.818 pares de bases é um dos maiores genes do genoma humano, sendo uma proteína de adesão celular pré-sináptica com a função de mediar interações neurônicas imprescindíveis para a formação e manutenção de sinapses.¹⁰⁴

As neurexinas são proteínas transmembranares, codificadoras de duas isoformas protéicas; α -Neurexinas, isoforma mais longa, e β -Neurexinas, uma isoforma mais curta.^{106, 105, 104}

Matsuda et al.¹⁰⁷ (2016) caracterizaram a descoberta dessa neurexina como neurexin-3, um complexo transsináptico ligado ao glutamato, localizado nas sinapses do SNC, mais especificamente no hipocampo, em seus neurônios inibitórios.^{108, 109}

É válido destacar o estudo pioneiro de Heard-Costa et al.¹¹⁰ (2009) sobre o SNP do gene NRXN3 (*rs10146997*); no qual, associaram a variante genética a circunferência da cintura (CC), ao IMC e a obesidade. A CC também está associada a *rs10146997*.¹¹¹ O SNP do NRXN3 se dá pela inversão dos nucleotídeos; Guanina por Adenina.

Heard-Costa et al.¹¹⁰ (2009) ainda destacam sobre o reconhecimento da associação do gene NRXN3 com dependência toxicológica, ligada ao comportamento impulsivo e vício, e que esta associação pode influenciar, consideravelmente, na presença do fenótipo/genótipo da distribuição de gordura, podendo haver uma linha tênue entre esses aspectos nos achados desse gene. Além da relação do gene NRXN3 ao sistema recompensa, há a associação do gene com a relação cintura-quadril ligada à composição e peso corporal.^{112, 113} Outros autores indicaram, em suas pesquisas, contribuições significativas da variante genética *rs10146997* à obesidade.¹¹⁴

Assim, pesquisas que abordem o uso deste gene podem auxiliar para o melhor entendimento de casos em que obesos são alvos mais suscetíveis a doenças como a COVID-19.

1.3.3 Lysophospholipase-like 1 (LYPLAL1)

A *Lysophospholipase-like 1* é uma enzima digestiva presente em indivíduos obesos, expressa pelo tecido adiposo¹¹⁵ e regulada nos canais iônicos pela sua capacidade de clivar as modificações de palmitoil presentes nos resíduos de cisteína das proteínas.¹¹⁶

A conformação da LYPLAL1 foi descrita por Bürger et al.¹¹⁷ (2012) como uma estrutura cristalina com dobra de hidrolase α / β típica somada a uma tríade catalítica clássica, com três aminoácidos conjuntos de forma coordenada (serina, aspartato e histidina).

Essa lipase, também é expressa em regiões cerebrais¹¹⁸ que regulam o metabolismo energético.¹¹⁹ É descrita uma ligação desse gene a gordura visceral,¹²⁰ disfunção insulínica e distribuição de gordura corporal,^{120,121} além da obesidade, em especial no gênero feminino.^{120,122}

A variante *rs4846567* desse gene indica obesidade central,^{123,124} havendo achados científicos, principalmente, relacionados ao gênero feminino.^{125,126,127,128} O SNP do LYPLAL1 se dá pela inversão dos nucleotídeos; Timina por Guanina.

Apesar das pesquisas com o gene LYPLAL1 ainda permanecerem limitadas em relação a sua via metabólica, estudos de Kok et al.¹²⁸ (2020) sugerem que uma ativação exacerbada dessa serina hidrolase colabora com disfunções metabólicas. Tendo em vista isso, a atual pesquisa poderia elucidar a correlação da presença de LYPLAL1 e a maior gravidade de doenças, como a COVID-19.

Diante do exposto, faz-se necessário o estudo de novos biomarcadores prognósticos e preditores de pior desfecho para a COVID-19, visto que os fatores genéticos que contribuem para a suscetibilidade e gravidade dessa doença podem fornecer novos *insights* biológicos sobre a patogênese da doença. Além de identificar alvos para o desenvolvimento terapêutico ou redirecionamento de medicamentos, pois o tratamento da doença continua sendo um objetivo altamente importante, junto ao desenvolvimento e sucesso das vacinas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a relação entre obesidade e variantes alélicas dos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 com o desfecho clínico da COVID-19.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar o impacto da obesidade para desfechos clínicos desfavoráveis na COVID-19.
- b) Correlacionar as variantes genéticas dos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1, e a obesidade ao pior desfecho da COVID-19.
- c) Correlacionar esses achados com a condição clínica dos pacientes.
- d) Avaliar a frequência dos *single nucleotide polymorphisms* na amostra.

3. MÉTODOS

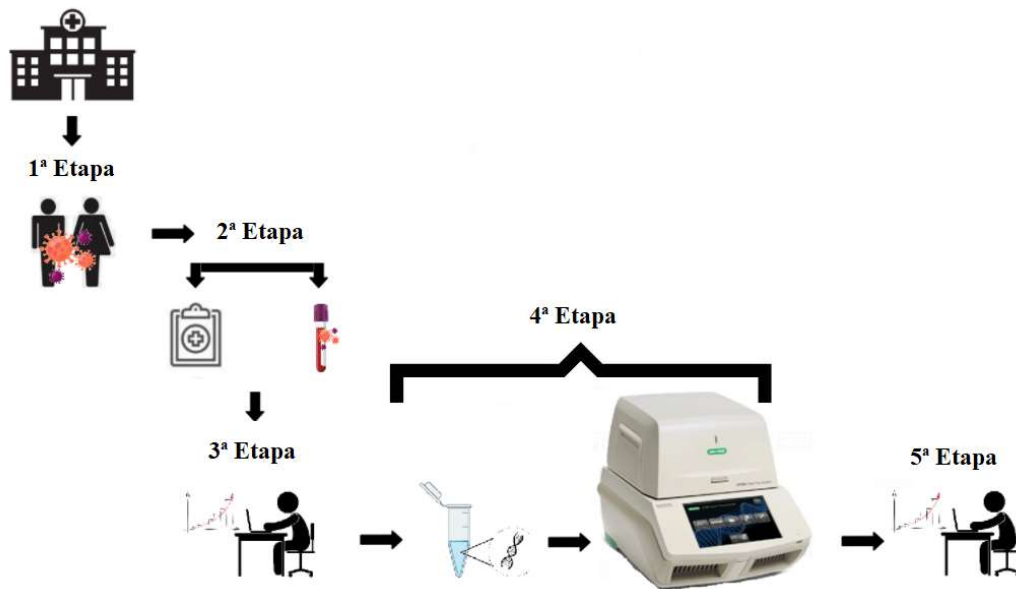
3.1 Local de estudo

Para viabilização do projeto intitulado “BIOMARCADORES E ETNIA: IMPACTO NO PROGNÓSTICO DA COVID-19”, foi formalizado parceria com o hospital público, da rede FHEMIG (Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais), conveniado à rede SUS (Sistema Único de Saúde), Hospital Eduardo de Menezes (HEM), situado na regional do Barreiro, em Belo Horizonte, Minas Gerais. O hospital oferece assistência especializada em infectologia e dermatologia sanitária, atuando também na pesquisa, formação e capacitação profissional, com atendimento hospitalar e ambulatorial em doenças infectocontagiosas.

3.2 Caracterização do estudo, da amostra e dos aspectos éticos

Foi realizado um estudo do tipo caso controle, de corte transversal com direção retrospectiva de monitoramento e mecanismo de obtenção amostral por conveniência, com pacientes diagnosticados com COVID-19, dos quais foram utilizadas amostras sanguíneas provenientes do Laboratório de Análises Clínicas, além de dados presentes nos prontuários do HEM. O delineamento está ilustrado na Figura 3.

Figura 3. Delineamento experimental do estudo.

**1ª Etapa:**

- Seleção de participantes no HEM (Diagnosticados com a COVID19)
- Convite e verificação de critérios de inclusão por contato telefônico

2ª Etapa:

- Consulta a prontuários (tabulação de dados sociodemográficos e clínicos)
- Seleção das amostras no Laboratório de Análises Clínicas do HEM

3ª Etapa:

- Estratificação e análise de dados tabulados

4ª Etapa:

- Aplicação de técnicas laboratoriais

5ª Etapa:

- Tabulação e análise estatística de dados

Do autor, 2021.

As etapas citadas na Figura 3 estão melhor detalhadas adiante.

3.2.1 População alvo

Para a realização do nosso estudo foram selecionados indivíduos diagnosticados com a COVID-19, atendidos no Hospital Eduardo de Menezes, no período de agosto de 2020 a outubro de 2021. A amostra deste estudo foi obtida por conveniência, em que todo adulto diagnosticado com COVID-19 e que atendia os critérios de inclusão era convidado a participar da pesquisa. Para inclusão na pesquisa os voluntários deveriam apresentar obrigatoriamente diagnósticos positivos para o SARS-CoV-2, de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 18 anos, independentemente do IMC apresentado. Os critérios de exclusão adotados foram: idade inferior a 18 anos, gravidez, diagnósticos negativos para a COVID-19

ou ausência de exames laboratoriais que comprovassem resultados positivos para o SARS-CoV-2, e ainda os portadores de deficiência cognitiva, pacientes em cuidados paliativos, pacientes em quadro grave, fatores esses, que os tornavam incapazes de interpretar e responder sobre a participação no projeto e que ainda não possuíam acompanhantes ou responsáveis legais. Os pacientes selecionados para a pesquisa foram agrupados de acordo com valores de IMC, sendo considerados: sobrepeso (IMC entre 25-29,9kg/m²), obesos (IMC \geq 30kg/m²) e grupo controle (IMC entre 18,5-24,9kg/m²).

Para melhor definição dos achados da pesquisa, visto que o excesso de peso (>24,9kg/m²) pode influenciar diretamente na saúde do indivíduo, foi necessário incluir também aos resultados os participantes que estavam acima do IMC máximo ideal (24,9kg/m²), os pacientes com sobrepeso.

3.2.1.1 Grupos de manejo clínico

Os pacientes foram classificados em três grupos (Quadro 1), em conformidade ao documento de manejo clínico da COVID-19 definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para a classificação de gravidade da doença.¹²⁹ A gravidade da doença de acordo com os grupos de manejo clínico foi dividida em: doença severa pela COVID-19, que inclui sinais clínicos de pneumonia somados a frequência respiratória com o número de respirações por minuto maior que 30 ou dificuldade respiratória grave ou saturação do oxigênio (SpO₂) em ar ambiente menor que 90%; e doença crítica que se caracteriza pela presença da Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SARA), sepse e choque séptico.¹²⁹

Quadro 1- Grupos de manejo clínico da COVID-19 de acordo com a WHO de 2020

| GRUPO | DESCRIÇÃO |
|----------------|---|
| Grupo 1 | Pacientes adultos com doença severa* pela COVID-19, com alta hospitalar de até 72h da admissão. |
| Grupo 2 | Pacientes adultos com doença severa pela COVID-19, com alta hospitalar após 72h de admissão. |
| Grupo 3 | Pacientes adultos com doença crítica**, internados em UTI e/ou que evoluíram a óbito. |

h: horas UTI: Unidade de terapia intensiva

* Sinais clínicos de pneumonia (febre, tosse, dispneia, respiração rápida) mais um dos seguintes: frequência respiratória >30 respirações/min; dificuldade respiratória grave; ou SpO₂ <90% no ar ambiente.

** SARA, sepse e choque séptico.

Fonte: Adaptado de WHO, 2020.¹²⁹

3.2.2 Aspectos éticos

A participação foi efetivada a partir da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), sendo a partir do TCLE que realizou-se os esclarecimentos em relação aos propósitos e delineamento do projeto. Os termos da Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde foram seguidos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos da UFMG, registrado sobre o número CAAE (Certificado de apresentação e apreciação ética) 31095820.4.0000.5149.

Essa concordância foi estabelecida após assinatura do TCLE, no qual constavam informações sobre o estudo (identificação, objetivo, metodologia), os riscos e benefícios dos mesmos, e seus direitos enquanto voluntários e responsáveis. Em virtude do contexto pandêmico, o TCLE foi aplicado via ligação telefônica e/ou aplicativo de comunicação com posterior gravação de áudio com autorização para participação na pesquisa, os áudios foram devidamente salvos e armazenados.

3.3 Delineamento

Este estudo incluiu os dados clínicos de sujeitos diagnosticados com COVID-19 a partir da análise de prontuários e coleta de amostras sanguíneas, sendo um estudo retrospectivo, analítico, do tipo caso-controle. Portanto, por se tratar de dados coletados de forma progressiva em relação à exposição dos fatores com tempo e população restrita é um estudo de caso controle transversal retrospectivo.

A pesquisa voltou-se para a análise de prontuários, com descrição detalhada de dados clínicos em editor de planilha, como o Microsoft Excel, o que possibilitou catalogar, controlar e organizar as informações com eficiência para a pesquisa. Assim, foi possível realizar coleta de dados sociodemográficos; sexo, data de nascimento, IMC e etnia autorreferida. Além de dados clínicos; número e nomeação das comorbidades, data de admissão e alta, evolução a óbito, internação em UTI e uso de VM.

Ressalta-se que a classificação do estado nutricional foi realizada por profissional da área de Nutrição do hospital anuente, a qual foi realizada por triagem nutricional com acesso

direto ao paciente, quando possível, ou a partir de peso estimado ou relatado por responsável do paciente.

Cálculo amostral

No Hospital Eduardo de Menezes, em Belo Horizonte, foram internados 1.518 casos suspeitos de COVID-19 no período de 18/03/20 a 30/06/20. Todos os pacientes que apresentaram síndrome respiratória aguda grave (SRAG) foram submetidos a coleta de swab orofaríngeo e nasofaríngeo para realizar o teste RT PCR COVID-19. Ao total, 726 pacientes foram testados, sendo o teste positivo em 156 casos. O cálculo amostral foi realizado considerando um nível de confiança de 95%, poder de 80% e tamanho de efeito igual a 1,2 de razão de chance, prevendo-se inicialmente a inclusão de 112 pacientes.

3.3.1 Amostra de sangue total periférico

Para extração do DNA dos pacientes, foram coletados, por profissional capacitado integrante do quadro de técnicos do HEM, 4 mL de sangue total periférico em tubo EDTA, armazenados à temperatura ambiente (25°C) até o seu processamento. A alíquota foi proveniente do mesmo sangue coletado para o hemograma, procedimento já realizado pelo hospital, de modo a não submeter o paciente a nova punção.

As amostras sanguíneas foram submetidas à inativação do vírus pelos técnicos do HEM, acompanhando o seguinte protocolo: a partir de uma solução isotônica (1x phosphate-buffered saline- PBS), adicionou-se 20 mL de Triton 2% e volume de solução de 190g de isotiocianato e 190g de tiocianato de guanidina (solubilização: banho-maria à 56°C).

Após inativação, os técnicos armazenavam as amostras em freezer (Temperatura: -80°C) do Laboratório de Análises Clínicas do HEM para posterior retirada, transporte e demais procedimentos realizados pela pesquisadora responsável.

As amostras foram transportadas conforme as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), conforme normativa vigente, até o Laboratório de Biologia Integrativa do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG, Campus Pampulha, local onde foi realizada a extração de DNA das amostras.

Um total de 271 amostras de sangue periférico foram coletadas. Dessas, somente 122 amostras foram previamente selecionadas, visto que não havia registro de prontuários de todos os pacientes disponíveis. Dessa forma, 122 amostras foram utilizadas para extração de DNA e posterior quantificação. Como a concentração de DNA obtida em algumas extrações não foi suficiente para os experimentos ($[DNA] < 30\text{ng}/\mu\text{L}$), algumas amostras não puderam ser utilizadas. Sendo assim, conseguimos um número amostral de 108 pacientes.

3.3.2 Extração de DNA e Genotipagem SNP

A extração de DNA, a partir de leucócitos, com auxílio do kit *Genomic DNA from blood NucleoSpin® Blood* da *Macherey-Nagel*, foi realizada conforme protocolo do fabricante. Após a extração, as amostras foram transportadas e armazenadas em geladeira específica para amostras de DNA (Temperatura: 4°C) do Laboratório de Medicina Molecular da UFMG do Campus Medicina, sob responsabilidade da coordenadora da pesquisa para posterior realização de análises genéticas. Os polimorfismos genéticos foram analisados por meio da técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) em tempo real, do inglês *Real Time* (RT).

3.3.2.1 Dos Genes

Foram selecionados três polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de três genes relacionados com obesidade; MC4R, NRXN3 e LYPLAL1. Todos os genes estudados foram selecionados conforme a literatura de interesse. Os SNPs estudados estão descritos na Tabela 1.

As sondas foram adquiridas do estoque do Laboratório de Medicina Molecular da UFMG e mantidas a temperatura de 4°C, local onde ficam catalogadas e armazenadas em freezer específico.

Tabela 1 - Polimorfismos de nucleotídeo único utilizados na pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| GENE | POLIMORFISMO | CÓDIGO | SNP |
|---------|-----------------|----------------|------------|
| MC4R | [VIC/FAM] [C/T] | C__32667060_10 | rs17782313 |
| NRXN3 | [VIC/FAM] [A/G] | C__30288512_10 | rs10146997 |
| LYPLAL1 | [VIC/FAM] [G/T] | C__26002354_10 | rs4846567 |

FAM: 6-fluorescein amidite; VIC: 2,7-dimethoxy-4,5-dichloro-6-carboxyfluorescein;

SNP: single nucleotide polymorphisms; T: Timina; C: Citosina; A: Adenina; G: Guanina.
Do autor, 2021.

3.3.2.2 Genotipagem

Os ensaios de genotipagem do SNP TaqMan foram usados de acordo com as instruções do fabricante (Applied Biosystems, Foster City, CA), usando o sistema ABI 7500 Fast Real-Time PCR e os genótipos analisados usando Sequence Detection Software 1.3.

Os procedimentos de controle de qualidade de genotipagem incluem duplicatas (10%), para verificação da precisão, além de inclusão de controles positivos em cada placa de 96 poços. Como forma de controle da qualidade dos resultados obtidos, o procedimento foi repetido em 10% da amostra, selecionadas aleatoriamente. Não foi encontrado nenhum erro de genotipagem.

3.3.2.2.1 Diluição das amostras

Previamente, como mencionado no item 3.3.1, foram selecionadas amostras com concentração acima de 30ng/μL de DNA, quantificadas por espectrofotometria (NanoDrop™ 2000- Thermo Scientific, EUA), totalizando 108 amostras.

A razão de valores de absorbâncias 260/280 foi determinada para estimar o grau de pureza do DNA em relação a quantidade de proteínas, sendo utilizado o valor entre 1.8 e 2 como ideal. E a razão 260/230 também foi determinada para avaliar o grau de pureza do DNA em relação às impurezas presentes na amostra, sendo utilizado o valor entre 2.0 e 2.2 como ideal.

Em seguida, o DNA foi diluído, com água mili-q autoclavada, para a concentração de 30ng/μL para as posteriores genotipagens. Nas placas de diluição foram devidamente adicionados os controles negativos, reagentes da PCR sem o DNA, e 10% de duplicatas.

3.3.2.2.2 Discriminação alélica por RT PCR

Para a reação de RT PCR foi preparada em placa para 96 amostras. Em cada poço foram depositados 1μL de DNA (30ng/μL) e 8μL de PCR Master Mix (APPLIED

BIOSYSTEMS INC, FOSTER, CA) e 1 μ L de uma das três sondas (MC4R, NRXN3 e LYPLAL1).

Foi necessário a montagem de três placas de PCR em tempo real, considerando três para cada placa matriz, sendo uma para cada gene utilizado. Após o preparo das placas foi realizado *spin*, 4°C a 3000 rcf (rcf do inglês *relative centrifugal force*) por 1 minuto em centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5810 R, Germany). Seguiu-se assim, o protocolo para montagem de placas, no qual considerou-se o cálculo de número de amostras somado a 10% e dois controles. O mix foi preparado considerando para cada poço o valor de 5.0 μ L para o Mix, 3.9 μ L para água e 0.1 μ L da probe. Após preparo, 9 μ L foi adicionado em cada poço da placa. O próximo passo foi adicionar 1 μ L de amostra de DNA por poço, totalizando 10 μ L por poço. Para os dois controles negativos foram colocados 9 μ L de mix + 1 μ L de água mili-q autoclavada. Assim, a placa foi devidamente selada e rotulada (nome do responsável + identificação + data) e centrifugada (*spin*) a velocidade de rotação de 3000 rpm.

Para a reação de PCR, utilizou-se o aparelho 7500 Real-Time PCR System (APPLIED BIOSYSTEMS INC, FOSTER, CA). Sobre os parâmetros de ciclagem, foi realizado um ciclo de desnaturação, com duração de dez minutos a 95°C, seguido por trinta ciclos de anelamento (15 segundos a 95°C) e extensão (1 minuto e 30 segundos a 60°C).

3.3.3 Análise estatística

Os dados foram expressos como mediana [intervalo interquartil (IQR)] ou porcentagens, conforme apropriado.

Todas as análises estatísticas foram conduzidas no programa R, versão 4.0.3. As variáveis categóricas foram descritas por frequência absoluta e relativa enquanto dados numéricos foram descritos como mediana e intervalo interquartil. Associações entre variáveis categóricas foram exploradas pelo teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Diferença de medianas entre grupos foram testadas pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis. Modelos de regressão logística foram utilizados para verificar o genótipo e a frequência alélica dos SNPs dos genes estudados, odds ratio (OR) e intervalo de confiança de 95%. O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi avaliado com o teste de qui-quadrado ou

teste de verossimilhança com a função *HWalltests* do pacote *HardyWeinberg*. Foram considerados significativos valores de percentil (p) <0,05.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

A pesquisa recrutou 108 participantes diagnosticados com a COVID-19, dos quais 56% (n=60) eram do gênero masculino e 44% do gênero feminino (n=48). A mediana de idade foi de 60 anos (21 – 86), sendo o tempo médio de permanência no hospital de 20 dias (0,5 – 223).

Em relação à classificação da característica fenotípica de coloração da pele; 74% se autodeclararam pardas (n=76), 17% brancas (n=18), 5,8% pretas (n=6), 2,9% amarelas (n=3), 0,3 % não informaram (n=5).

A maioria dos sujeitos (93%, n=100) possuía alguma comorbidade, desses, 62% possuía mais de uma comorbidade (n=67). Das comorbidades relatadas, foram caracterizadas; excesso de peso (67%; n=72), hipertensão (56%; n=60), diabetes (35%; n=38), doenças neurológicas (19%; n= 21), hipotireoidismo (11%; n=12), toxicodependência (8,3%; n=9), dislipidemia (7,4%; n=8), vírus da imunodeficiência humana (6,5%; n=7), asma (3,7%; n=4) e câncer (2,8%; n=3).

O estado nutricional foi avaliado de acordo com a classificação do IMC. A amostra foi representada por um valor mediano de peso de 90kg. Os dados antropométricos revelaram excesso de peso em 67% (n=72) dos casos (Tabela 2).

Tabela 2 - Dados antropométricos e classificação nutricional dos participantes da pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| Variável | Mediana (IQR) | Classificação nutricional | F (% , n) |
|--------------------------|---------------|---------------------------|-----------|
| Peso (kg) | 90 (38 - 180) | - | - |
| IMC (kg/m ²) | - | Baixo peso | 1,9 % (2) |
| | | Eutrofia | 31 % (34) |
| | | Excesso de Peso | 67 % (72) |

Os valores estão expressos em frequência absoluta e mediana (IQR- Intervalo quartil).

DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporal; F: frequência.

Do autor, 2022

Dos voluntários caracterizados com excesso de peso ($IMC > 24,9\text{kg/m}^2$), 50% ($n=54$) eram obesos ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$) e 17% ($n=18$) eram sobrepesos (IMC entre $25-29,9\text{kg/m}^2$) (Tabela 3). O tempo médio de internação dos pacientes obesos, considerando desde a admissão até alta/óbito, foi de 22 dias, sendo este valor maior do que dos pacientes não obesos (dados não apresentados), $p<0,05$.

A presença de duas ou mais comorbidades foi observada em 74% dos obesos e em 50% de não obesos ($p<0,05$). Ainda foi possível notar que os pacientes obesos que possuíam outra comorbidade apresentaram maior hospitalização em UTI (76%, $n = 41$) quando comparados aos não obesos ($p<0,05$) (Tabela 3). Em relação ao grupo de manejo clínico, os pacientes obesos demonstraram apresentar quadros mais graves da doença, sendo que 78% ($n = 42$) foram caracterizados no grupo GMC 3, apresentando uma diferença significativa quando comparados com pacientes não obesos (50%) ($p<0,05$) (Tabela 3).

Os participantes classificados como sobrepeso, também caracterizados na Tabela 3, apresentaram maior representatividade no grupo GMC2, 72% ($n = 13$).

Demais caracterizações dos voluntários obesos e sobrepesos estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3- Características dos participantes com excesso de peso da pesquisa- Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| Variável | Obesos (54, 50%) | | Sobrepeso (18, 17%) | | p-valor |
|------------------------|------------------|------------------|---------------------|------------------|---------|
| | Não obesos | Frequência (n,%) | Não sobrepesos | Frequência (n,%) | |
| Dias internados | | | | | |
| < 10 dias | 17 (31%) | 11 (20%) | 22 (24%) | 6 (33%) | 0,556 |
| > 10 dias | 37 (69%) | 43 (80%) | 68 (76%) | 12 (67%) | |
| Gênero | | | | | |
| Feminino | 23 (43%) | 25 (46%) | 42 (47%) | 6 (33%) | 0,299 |
| Masculino | 31 (57%) | 29 (54%) | 48 (53%) | 12 (67%) | |
| Etnia | | | | | |
| Branca | 8 (16%) | 10 (19%) | 15 (18%) | 3 (17%) | 0,196 |
| Amarela | 1 (2,0%) | 2 (3,8%) | 3 (3,5%) | 0 (0%) | |
| Parda | 37 (74%) | 39 (74%) | 64 (75%) | 12 (67%) | |
| Preta | 4 (8,0%) | 2 (3,8%) | 3 (3,5%) | 3 (17%) | |
| Idade | | | | | |
| 20-40 anos | 3 (5,6%) | 6 (11%) | 9 (10%) | 0 (0%) | 0,215 |
| 40-59 anos | 22 (41%) | 21 (39%) | 33 (37%) | 10 (56%) | |
| ≥ 60 anos | 29 (54%) | 27 (50%) | 48 (53%) | 8 (44%) | |
| GMC | | | | | |
| GMC1 | 1 (1,9%) | 0 (0%) | 1 (1,1%) | 0 (0%) | <0,001 |
| GMC2 | 26 (48%) | 12 (22%) | 25 (28%) | 13 (72%) | |
| GMC3 | 27 (50%) | 42 (78%) | 64 (71%) | 5 (28%) | |
| UTI | | | | | |
| UTI + Comorbidade | 22 (41%) | 41 (76%) | 58 (64%) | 5 (28%) | 0,004 |
| Comorbidade | | | | | |
| ≥ 2 comorbidade | 56 (52%) | 41 (76%) | 51 (57%) | 5 (28%) | 0,025 |
| sem comorbidade | 46 (85%) | 54 (100%) | 82 (91%) | 18 (100%) | 0,347 |
| 1 comorbidade | 27 (50%) | 40 (74%) | 56 (62%) | 11 (61%) | 0,459 |
| VM | 8 (15%) | 0 (0%) | 8 (8,9%) | 0 (0%) | 0,459 |
| Óbito | 19 (35%) | 14 (26%) | 26 (29%) | 7 (39%) | 0,459 |
| | 8 (15%) | 12 (22%) | 19 (21%) | 1 (5,6%) | 0,185 |
| | 17 (31%) | 24 (44%) | 39 (43%) | 2 (11%) | 0,010 |

Os valores estão expressos em frequência absoluta e relativa. Valores p derivados do Teste Wilcoxon-Mann-Whitney; Teste t de Student para amostras independentes; Teste Qui-quadrado.

GMC1: Grupo de manejo clínico 1; GMC2: Grupo de manejo clínico 2; GMC3: Grupo de manejo clínico 3; UTI: Unidade de Terapia Intensiva; VM: Ventilação Mecânica.

Do autor, 2022

A gravidade da doença entre os pacientes da amostra estudada (n=108) foi avaliada considerando os grupos de manejos clínicos (GMC 1, 2 e 3), caracterizando; 64% (n = 69) no grupo 3, 35% (n = 38) no grupo 2, e 0,9% (n=1) no grupo 1 (dados não apresentados).

O tempo médio de internação hospitalar para o GMC3 foi de 21 dias, sendo que a maior parcela (61%, n = 42) desse grupo passou mais de 20 dias hospitalizado (Tabela 4).

Em relação à gravidade dos quadros clínicos, 64% da população estudada estava no grupo de manejo clínico 3 ($p<0,05$). Dos indivíduos com classificações de IMC acima do ideal máximo ($24,9 \text{ kg/m}^2$) que demonstraram apresentar quadros mais graves da doença, 96% (n = 46) foram internados em UTI com 27% (n = 13) em uso de VM, sendo caracterizados no grupo GMC3, apresentando uma diferença significativa dessas variáveis quando comparados aos pacientes alocados nos grupos menos críticos (1 e 2) ($p<0,05$) (Tabela 4).

Os pacientes que apresentavam alguma comorbidade que foram internados em UTI (81%; n= 56) e que utilizaram ventilação mecânica (25 %; n = 17) desenvolveram desfechos clínicos mais desfavoráveis, sendo classificados no GMC3 ($p<0,05$) (Tabela 4).

Mais características dos grupos de manejo clínico podem ser vistas na Tabela 4.

Tabela 4- Características dos pacientes alocados no grupo de manejo clínico 3 (GMC 3) da pesquisa- Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| Variável | GMC 1 e 2 (39, 36%) | GMC3 (69, 64%) | p-valor |
|------------------------|---------------------|--------------------|---------|
| | Frequência (n,%) | Frequência (n,%) | |
| Dias internados | | | |
| > 20 dias | 14 (36%) | 42 (61%) | 0,046 |
| Gênero (F/ M) | 18 (46%)/ 21 (54%) | 30 (43%)/ 39 (57%) | 0,788 |
| Idade | | | 0,720 |
| 20-40 anos | 2 (5,1%) | 7 (10%) | |
| 40-59 anos | 16 (41%) | 27 (39%) | |
| ≥ 60 anos | 21 (54%) | 35 (51%) | |
| UTI | 0 (0%) | 63 (91%) | <0,001 |
| UTI + comorbidade | 0 (0%) | 56 (81%) | <0,001 |
| VM | 0 (0%) | 20 (29%) | <0,001 |
| VM + comorbidade | 0 (0%) | 17 (25%) | <0,001 |
| IMC | | | <0,001 |
| Desnutrição | 1 (2,6%) | 1 (1,4%) | |
| Eutrofia | 13 (33%) | 21 (30%) | |
| Sobrepeso | 11 (28%) | 5 (7,2%) | |
| Obesidade | 14 (36%) | 42 (61%) | |
| Excesso de peso | 25 (64%) | 47 (68%) | 0,671 |
| Excesso de peso + UTI | 0 (0%) | 46 (96%) | <0,001 |
| Excesso de peso + VM | 0 (0%) | 13 (27%) | 0,003 |
| Comorbidade | 38 (97%) | 62 (90%) | 0,254 |
| Obesidade | 12 (31%) | 42 (61%) | 0,003 |
| Sobrepeso | 13 (33%) | 5 (7,2%) | <0,001 |
| DM | 12 (31%) | 26 (38%) | 0,470 |
| HAS | 24 (62%) | 36 (52%) | 0,347 |

| Óbito | 0 (0%) | 41 (59%) | <0,001 |
|-------|--------|----------|--------|
|-------|--------|----------|--------|

Os valores estão expressos em frequência absoluta e relativa. Valores p derivados do Teste U Mann-Whitney; Teste t de Student para amostras independentes; Teste Qui-quadrado.
 UTI; Unidade de Terapia Intensiva; IMC: Índice de massa corporal; VM: Ventilação Mecânica; DM: Diabetes Mellitus; HAS: Hipertensão

Do autor, 2022

A mediana de idade igual a 65 anos caracterizou a população que foi a óbito. Observou-se que 67% (n = 16) dos óbitos eram homens obesos e que 67% (n = 16) eram obesos pardos (dados não significativos). A evolução a óbito de pacientes que estavam internados em UTI (85%, n = 35) e dos que faziam uso de VM (34%, n = 14) foi mais prevalente, apresentando uma diferença significativa quando comparados aos pacientes que não estavam em UTI (42%) ou ainda que não estavam fazendo uso de VM (9%) (p<0,05) (Tabela 5). A mediana de internação dos pacientes que foram a óbito foi igual a 20 dias (9 - 36) (dado não apresentado).

A evolução de óbito para os voluntários classificados com IMC acima do ideal máximo (24,9 kg/m²) foi significativa em comparação aos indivíduos com IMC menor que 24,9 kg/m²(p<0,05), com mediana de peso igual a 95kg (p<0,05), sendo 59% (n = 24) obesos e 4,9 % (n = 2) sobrepesos (p<0,05). Todos os obesos que estavam alocados no GMC3 evoluíram a óbito (100%, n = 24; p<0,05). Também foi observado o desfecho de óbito em relação ao excesso de peso, no qual os óbitos foram mais prevalentes em relação aos piores desfechos clínicos desses pacientes com peso acima do ideal máximo (GMC3: 100%, n = 26 e UTI: 93%, n = 25), p<0,05 (Tabela 5).

Apesar de não significativo, é válido destacar o elevado percentual de pessoas pardas que foram a óbito pela COVID-19 em nosso estudo, visto que grande parcela da população estudada se autodeclarou parda. Além dessas, mais variáveis caracterizam a população que foi a óbito e estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5- Características da população com desfecho de óbito - Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| Variável | Não óbitos | Óbitos (41, 38%) | p-valor |
|-------------------------------|-------------------|--------------------|---------|
| | Frequência (n,%) | Frequência (n,%) | |
| Gênero (F/M) | 34 (51%)/33 (49%) | 14 (34%)/ 27 (66%) | 0,092 |
| Obesidade + Gênero | | | |
| F/ M | 17 (57%)/13 (43%) | 8 (33%)/ 16 (67%) | 0,088 |
| Etnia | | | |
| Branca | 6 (9,5%) | 12 (30%) | 0,017 |
| Amarela | 1 (1,6%) | 2 (5,0%) | |
| Parda | 51 (81%) | 25 (62%) | |
| Preta | 5 (7,9%) | 1 (2,5%) | |
| Obesidade + Etnia | | | 0,162 |
| Branca | 4 (14%) | 6 (25%) | |
| Amarela | 0 (0%) | 2 (8,3%) | |
| Parda | 23 (79%) | 16 (67%) | |
| Preta | 2 (6,9%) | 0 (0%) | |
| Idade | | | 0,280 |
| 20-40 anos | 4 (6,0%) | 5 (12%) | |
| 40-59 anos | 30 (45%) | 13 (32%) | |
| ≥ 60 anos | 33 (49%) | 23 (56%) | |
| IMC | | | 0,025 |
| Desnutrição | 1 (1,5%) | 1 (2,4%) | |
| Eutrofia | 20 (30%) | 14 (34%) | |
| Sobrepeso | 17 (25%) | 2 (4,9%) | |
| Obesidade | 29 (43%) | 24 (59%) | |
| GMC3 | 28 (42%) | 41 (100%) | <0,001 |
| Obesidade + GMC3 | 18 (60%) | 24 (100%) | <0,001 |
| Excesso de peso + GMC3 | 21 (46%) | 26 (100%) | <0,001 |
| VM | 6 (9,0%) | 14 (34%) | <0,001 |
| VM + comorbidade | 6 (9,0%) | 11 (27%) | 0,013 |
| Excesso de peso + UTI | 21 (46%) | 25 (93%) | <0,001 |
| UTI | 28 (42%) | 35 (85%) | <0,001 |
| UTI + comorbidade | 26 (39%) | 30 (73%) | <0,001 |
| Comorbidade | 64 (96%) | 36 (88%) | 0,255 |
| ≥ 2 comorbidade | 43 (64%) | 24 (59%) | 0,397 |

Os valores estão expressos em frequência absoluta e relativa. Valores p derivados do Teste U Mann-Whitney; Teste t de Student para amostras independentes; Teste Qui-quadrado.

F: Feminino; M: Masculino; UTI: Unidade de Terapia Intensiva; IMC: Índice de massa corporal; VM: Ventilação Mecânica

Do autor, 2022.

4.2 Frequência de alelos e genótipos de SNPs

A Tabela 6 apresenta as frequências dos genótipos e alelos dos SNPs dos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 presentes nos voluntários da pesquisa.

Nenhuma associação foi encontrada ($p > 0,05$), não havendo diferença estatística significativa entre as frequências apresentadas (genotípicas) em relação aos grupos caso e controle demonstrados (Tabela 6).

Tabela 6 - Frequências genotípicas dos tagSNPs de MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 dos pacientes obesos e não obesos da pesquisa- Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| tagSNP | Obesidade (Freq%) | Controle (Freq%) | OR (95% IC) | p-valor |
|-------------------|-------------------|------------------|--------------------|---------|
| <i>rs17782313</i> | | | | |
| TT | 28 (52 %) | 32 (59%) | 0,74 (0,34 - 1,58) | 0,439 |
| TC | 19 (35 %) | 17 (31%) | 1,81 (0,53 - 2,63) | 0,683 |
| CC | 7 (13 %) | 5 (9,3%) | 0,01 (0,00 - 0,05) | 0,0001 |
| TC+ CC | 24 (45%) | 29 (55%) | 0,50 (0,50 - 2,32) | 0,84 |
| tagSNP | Obesidade (Freq%) | Controle (Freq%) | OR (95% IC) | p-valor |
| <i>rs10146997</i> | | | | |
| AA | 41 (76 %) | 41 (77%) | 0,92 (0,37 - 2,26) | 0,861 |
| AG | 9 (17%) | 9 (17%) | 0,04 (0,01 - 0,11) | 0,0001 |
| GG | 4 (7,4%) | 3 (5,7%) | 0,00 (0,00 - 0,02) | 0,0001 |
| AG+ GG | 13 (24%) | 12 (23%) | 0,09 (0,03 - 0,22) | 0,0001 |
| tagSNP | Obesidade (Freq%) | Controle (Freq%) | OR (95% IC) | p-valor |
| <i>rs4846567</i> | | | | |
| GG | 29 (56%) | 35 (65%) | 0,68 (0,31 - 1,49) | 0,342 |
| GT | 19 (37%) | 16 (30%) | 0,24 (0,10 - 0,54) | 0,0006 |
| TT | 4 (7,7%) | 3 (5,6%) | 1,41 (0,30 - 6,66) | 0,659 |
| GT+ TT | 23 (44%) | 19 (35%) | 1,46 (0,66 - 3,19) | 0,342 |

Os valores estão expressos em frequência absoluta e relativa. Valores p derivados do Teste de deviance, Regressão logística. IC: Intervalo de confiança; Freq%: Frequência; OR: Odds Ratio; T: Timina; C: Citosina; A: Adenina; G: Guanina.

Do autor, 2022.

Os dados relativos às características fenotípicas dos voluntários da pesquisa estão apresentados de acordo com os resultados genótipos dos SNPs dos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 na Tabela 7.

Os pacientes diagnosticados com a COVID- 19 portadores do alelo T (MC4R) apresentaram associação com a obesidade e etnia parda, apresentando significância estatística quando comparados aos portadores dos outros alelos, $p < 0,05$. Este dado não era esperado no estudo (Tabela 7).

Demais características fenotípicas e resultados genótipos dos voluntários podem ser vistas na Tabela 7.

Tabela 7 - Características fenotípicas e resultados genótipos dos SNPs dos genes dos voluntários da pesquisa - Belo Horizonte, MG - 2020- 2021

| MC4R | N =108 | TT = 60 | TC = 36 | CC = 12 | |
|---------------------|----------|----------|----------|---------|---------|
| Parâmetros | Total | TT | TC | CC | p valor |
| Obesidade + etnia | | | | | 0.032 |
| Amarela | 2 (3,8%) | 2 (7,4%) | 0 (0%) | 0 (0%) | |
| Branca | 10 (19%) | 6 (22%) | 2 (11%) | 2 (29%) | |
| Parda | 39 (74%) | 19 (70%) | 17 (89%) | 3 (43%) | |
| Preta | 2 (3,8%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 2 (29%) | |
| População não obesa | 55 | 33 | 17 | 5 | |
| NRXN3 | N =108 | TT = 60 | TC = 36 | CC = 12 | |
| Parâmetros | Total | AA | AG | GG | p valor |

| | | | | | |
|---------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|----------------|
| Obesidade + etnia | | | | | 0.409 |
| Amarela | 2 (3,8 %) | 1 (2,5%) | 1 (11%) | 0 (0%) | |
| Branca | 10 (19 %) | 9 (22 %) | 1 (11%) | 0 (0%) | |
| Parda | 39 (74 %) | 29 (72 %) | 6 (67 %) | 4 (100%) | |
| Preta | 2 (3,8 %) | 1 (2,5 %) | 1 (11%) | 0 (0%) | |
| População não obesa | 54 | 42 | 9 | 3 | |
| LYPLAL1 | N =106 | GG = 64 | GT = 35 | TT = 7 | |
| Parâmetros | Total | GG | GT | TT | p valor |
| Obesidade + etnia | | | | | 0.823 |
| Amarela | 2 (3,9%) | 2 (6,9%) | 0 (0%) | 0 (0%) | |
| Branca | 10 (20%) | 6 (21%) | 3 (16%) | 1 (33%) | |
| Parda | 37 (73%) | 20 (69%) | 15 (79%) | 2 (67%) | |
| Preta | 2 (3,9) | 1 (3,4%) | 1 (5,3%) | 0 (0%) | |
| População não obesa | 55 | 35 | 16 | 4 | |

Os valores estão expressos em frequência absoluta e relativa. Valores p derivados do Teste U Mann-Whitney; Teste t de Student para amostras independentes; Teste Qui-quadrado.

T: Timina; C: Citosina; A: Adenina; G: Guanina.

Do autor, 2022.

As características em relação aos grupos de manejo clínico e os resultados genótipos dos voluntários da pesquisa foram verificados (dados não mostrados). Os voluntários portadores das variantes alélicas CC+TC do gene MC4R, GG+AG do gene NRXN3 e TT+GT do gene LYPLAL1 apresentaram maiores percentuais no grupo de manejo clínico mais crítico (GMC3), porém os resultados não foram significativos ($p > 0,05$).

Dois SNPs, dos genes MC4R e LYPLAL1 apresentaram equilíbrio de Hardy-Weinberg (p-valor 0.07 e 0.46 para *rs17782313* e *rs4846567*, respectivamente). O SNP correspondente ao gene NRXN3 não apresentou equilíbrio (p-valor $< 0,05$).

5. DISCUSSÃO

A literatura descreve diversas variantes genéticas relacionadas a doenças, a mesma aborda a associação de biomarcadores genéticos relacionados à obesidade com a COVID-19.¹³⁰ Apesar da existência de dados que colaboram com o incentivo de estudos genéticos com a COVID-19,^{131,132} a escassez de estudos de replicação é um desafio para compreensão de fatores de associação genética relacionados à obesidade com a COVID-19. Compreendendo a relevância dessa temática, principalmente por ser uma doença emergente com elevados índices de mortalidade,³ e visto que a literatura ainda não dispõe de estudos de associação dos polimorfismos dos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 com a doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, o nosso estudo contribui para somatória de dados que possam

determinar os sujeitos mais propensos a adquirir a doença e ou fatores que determinem piores desfechos naqueles que são portadores das variantes alélicas desses genes.

As variantes alélicas não apresentaram associação ao pior desfecho clínico da COVID-19, embora os pacientes portadores das variantes alélicas CC+TC (MC4R), GG+AG (NRXN3) e TT+GT (LYPLAL1) tenham apresentado tempo mediano de internação hospitalar de 20 dias. O maior tempo de internação hospitalar são achados condizentes aos piores desfechos de uma doença, podendo indicar a necessidade de uma maior abordagem científica sobre esses e outros genes e suas associações com a COVID-19, como já destacado na literatura sobre a relação genética inferir em piores desfechos da COVID-19, indicando que a medicina molecular pode contribuir na identificação de sujeitos mais suscetíveis a adquirir a doença, ou ainda a indicativa de baixo risco de alguns indivíduos, gerando amplitude do conhecimento da biologia da infecção e doença pelo vírus SARS-CoV-2 ao nível global.^{131,132}

A produção de estudos com dados genéticos, apesar de não significativos, geram novos *insights* para o estudo de outros genes que possam estar relacionados a COVID-19, visto que a identificação de genes que determinam a suscetibilidade à COVID-19, ou seu pior desfecho, pode fornecer informações sobre os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à doença, podendo incluir novas abordagens de tratamento e prevenção. Visto a não significância estatística desses dados, mais estudos, em larga escala, com N amostral maior são necessários para uma discussão mais assertiva.

No presente estudo, os pacientes portadores do SNP do MC4R, *rs17782313*, não demonstraram resultados estatisticamente significativos em relação à piora dos desfechos clínicos da COVID-19, apesar da sua associação com a obesidade.^{14,84} Considerando então sua relação estrita como biomarcador de obesidade, e ainda considerando os resultados encontrados no presente estudo da associação da obesidade ao pior desfecho na COVID-19, é válido averiguar a necessidade de mais estudos que realizem uma investigação mais apurada, com maior dimensão populacional, da relação entre sujeitos portadores de SNPs do gene MC4R e desfechos clínicos da COVID-19.

Os pacientes portadores do SNP *rs10146997* (NRXN3) também demonstraram resultados estatísticos não significativos em relação ao pior desfecho clínico da COVID-19. Nota-se a necessidade de mais estudos, com população mais abrangente, para melhor delinear

a relação desse gene a doenças, como a COVID-19, visto que a literatura mostra funções que o gene NRXN3 poderia desempenhar em junção com sua relação com a obesidade descrita em outros trabalhos.¹⁰⁹⁻¹¹⁴ Além disso, perfaz-se a necessidade de mais estudos relacionados ao gene NRXN3 dada a sua extensa possibilidade de desenvolvimento de sinapses, já conhecida pela literatura,¹⁰⁴ que se prejudicada pode afetar as funções do organismo, incluindo o sistema imune, capacitando-o à vulnerabilidade.

Os portadores do SNP *rs4846567* (LYPLAL1) não indicaram piora nos desfechos clínicos da COVID-19. Mas ainda é válido destacar o papel desse gene no organismo,¹¹⁶ e sua ligação com o excesso de peso,¹¹⁹⁻¹²⁷ mesmo que ainda não, suficientemente, elucidadas as suas vias de sinalização.

Dessa forma, seria interessante supor que uma alteração de genótipos no gene LYPLAL1 poderia ocasionar em um decréscimo de linfócitos CD4, dada sua capacidade de despalmiteação,¹¹⁶ acarretando em uma exposição do sistema imunológico, o que, por sua vez, abriria precedentes para possíveis infecções e complicações. Dito isso, é importante considerar mais pesquisas, com maior população, para elucidar a relação das variantes genéticas de LYPLAL1 aos achados clínicos de piores desfechos da COVID-19, assim como de outras doenças virais e infecciosas.

Em relação aos genes estudados para a frequência genotípica nos grupos analisados, no caso do SNP do gene NRXN3, a população não estava em concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Apesar do teste qui-quadrado utilizado neste estudo para validar os dados observados no EHW seja bem conceituado para uso nesse teste, o desvio ocorrido pode ser explicado, principalmente, devido ao tamanho da amostra avaliada.¹³³⁻¹³⁵ Se não há mudança nas frequências dos alelos e do genótipo da população ao longo do tempo, diz-se que a população está em EHW, ou seja, sem apresentação de alteração. Caso haja essa mudança, há a possibilidade de que esteja ocorrendo evolução ao longo das gerações.¹³³⁻¹³⁵ Os fatores evolutivos de seleção natural, mutação, migração e oscilações genéticas (modificação aleatória de frequências genéticas) poderiam desencadear alguma alteração na frequência de alelos, o que pode indicar que dada população está sofrendo um processo de evolução natural, ocorrendo mutações.¹³³⁻¹³⁵ Os demais genes, MC4R e LYPLAL1, apresentaram EHW. O que indica bons parâmetros de equilíbrio genético no estudo, com proporções alélicas e genotípicas esperadas na população estudada.¹³³⁻¹³⁵

Diante do exposto, é necessário ter atenção às complexas interações entre os fatores genéticos e ambientais que podem mascarar os efeitos das variantes genéticas, sendo assertiva a realização de mais estudos com maior número de pacientes para examinar se outras variantes comuns nos genes MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 contribuem para o risco de aquisição da COVID-19 e de seus complicadores.

Ressalta-se ainda que a nossa pesquisa visou a avaliação, além da obesidade, dos polimorfismos dos genes da MC4R, NRXN3 e LYPLAL1 em relação ao risco de piores desfechos para a COVID-19, visto que a literatura ainda não dispõe de trabalhos modelos do tipo. Assim, possivelmente, este foi o primeiro estudo a investigar as prováveis relações entre os SNPs dos genes citados à COVID-19.

Em relação a obesidade, estudamos sua associação aos desfechos clínicos de pacientes diagnosticados com a COVID-19, visto que a obesidade é uma doença crônica que precede e estabelece complicações a qualidade de vida da população, sendo mundialmente associada a mortalidade.⁷ De encontro a isso estão os nossos achados nesta pesquisa, que trazem a associação do IMC acima do ideal máximo ao desfecho de óbito por COVID-19, além da sua relação ao maior tempo de internação hospitalar, alocação em UTI e grupos de manejo clínico mais críticos, resultando em piores desfechos aos indivíduos com peso acima do ideal.

Cai et al.¹³⁶ (2020) relatam em suas pesquisas essa progressão para o estado mais crítico da COVID-19, considerando a piora do estado clínico em pessoas obesas devido às condições fisiopatológicas da obesidade, caracterizadas pela resposta inflamatória, com ativação do sistema renina angiotensina assim como pela lesão tecidual, hipóxia e resistência insulínica.^{13,60,14,49,64} Um maior tempo de internação hospitalar visto nos pacientes obesos da pesquisa é mais um indicativo do que o excesso de peso pode transpor a qualidade de vida, aumentando o tempo de internação hospitalar e consequentemente o estado clínico do paciente, visto que ocorre exposição hospitalar a diversos fatores agravantes, como também o comprometimento da atividade mecânica e funcionalidade de sistemas e órgãos, dada a gravidade da doença.^{14,49,70,65,67,69,137,138}

Majoritariamente a população estudada possuía alguma comorbidade, dentre as quais o excesso de peso esteve presente na maioria dos casos. Esses dados clínicos vão de encontro aos achados de Huang et al.¹³⁹ (2020), Piroth et al.¹⁴⁰, Stefan et al.⁶⁸ e Wang et al.¹⁴¹(2021). O que demonstra que pessoas com excesso de peso possuem complicadores que proporcionam

estados deletérios que resultam na suscetibilidade à COVID-19, dada a saúde metabólica prejudicada, como a inflamação subclínica e as disfunções orgânicas presentes em indivíduos obesos.^{70, 68,72,73}

O excesso de peso configurou mais da metade da população no grupo mais crítico de manejo clínico, sendo que tanto a obesidade como o sobrepeso foram considerados fatores de risco para a entrada nos grupos de manejo clínico mais críticos (2 ou 3). Pesquisas de Nakeshbandi et al.¹⁴² (2020) e Stefan et al.⁶⁸ (2021) demonstraram esse impacto da obesidade na COVID-19, revelando que pacientes diagnosticados com a COVID-19, com sobrepeso ou obesidade, possuem maior risco de mortalidade, com maior tendência ao uso de ventilação mecânica comparados aos sujeitos de IMC dentro da faixa de normalidade, além de indicarem que, principalmente, a obesidade visceral é um forte complicador da doença.

Esses achados são relevantes para predizer que uma população que se encontra acima do índice de massa corporal saudável (entre 18,5 a 24,9 kg/m²)¹⁴³ pode ter uma tendência, mais explícita, de casos graves da COVID-19. Essa leitura de resultados corresponde aos achados clínicos de autores que correlacionaram o IMC e a COVID-19.^{131,132,143,142,144-148} Autores relataram essa tendência de casos mais graves em pacientes com IMC acima do ideal máximo, correlacionando os fatores desfavoráveis do estado obeso com a COVID-19, como inflamação e estresse oxidativo somados as disfunções imunológica, endotelial e cardiovasculares que corroboram com a metainflamação característica da infecção por SARS-CoV-2 em pacientes obesos.^{131, 132, 143, 142, 145, 144-149}

Também foi percebido que pessoas com excesso de peso internadas em UTI com uso de ventilação mecânica compreendiam um número mais expressivo no GMC3 em relação aos pacientes com IMC < 24,9kg/m². O IMC demonstrou ser um indicativo de pior prognóstico em relação à entrada no GMC3. Esses achados corroboram com os estudos de Nakeshbandi et al.¹⁴² (2020) e Stefan et al.⁶⁴ (2021), entre outros autores que indicam que o IMC elevado colabora com estados mais graves de uma doença, devido aos seus efeitos metabólicos prejudiciais a saúde, como o depósito de ectópico de gordura, a resistência insulínica e a disfunção imunológica.^{70,72,73,149}

Os dados da pesquisa indicam que a maior parcela de óbitos foi do grupo de pacientes com IMC acima do ideal máximo. Esse achado corrobora com achados de outros autores^{146, 68} e está de acordo com os relatórios da OMS que indicam maior mortalidade em casos de

indivíduos com IMC elevado.⁷ Os pacientes com excesso de peso que ficaram internados em UTI e evoluíram a óbito caracterizaram quase 100% da população estudada. Esses achados corroboram com os estudos de outros autores, considerando todos os complicadores da inflamação característica dos indivíduos com excesso de peso e suas relações com a infecção pelo SARS-CoV-2.^{148-150,68,70,72,73} A mortalidade de grupos com IMC acima do ideal é bem relatada na literatura,^{147,148} e a relação com a COVID também já se encontra bem disseminada, com dados em larga escala territoriais, em vista aos países com preponderância de excesso de peso.^{137,138,18,142,149} Os complicadores metabólicos e mecânicos do IMC elevado condicionam o indivíduo a piora de desfechos clínicos, com maior tempo de internação hospitalar e mortalidade, visto desde a pressão intra-abdominal que acarreta em outras doenças que debilitam o estado de saúde como também as disfunções orgânicas decorrentes da inflamação adiposa, com disfunção de tecidos e órgãos, que depreciam os sistemas imune e cardiovascular.^{137,138,18,142,14,49,60,65,72,146, 147-149}

Alguns fatores, como idade, gênero e etnia, foram descritos para melhor caracterizar a amostra estudada, a fim de discutir se essas variáveis podem tornar o quadro de saúde mais agravante. A maioria da população estudada era idosa, o que influencia na categorização da faixa etária da população obesa do estudo. Estudos pioneiros, de Perrotta et al.¹⁵¹ e Pietrobon et al.¹⁵² (2020), sobre a população mais acometida com a COVID-19 já apontavam os idosos como grupo de risco, devido principalmente à imunossenescência característica desses sujeitos, que também foi relatada em revisões de Chen et al.¹⁵³, Müller et al.¹⁵⁴ e Stefan et al.⁶⁸ (2021). A mediana de idade (60 anos) encontrada dos voluntários obesos que foram diagnosticados com a COVID-19, apesar de não significativa, soma-se como fator agravante para um pior desfecho da doença, como indicado por Perrotta et al.¹⁵¹ (2020), Chen et al.¹⁵³, Müller et al.¹⁵⁴ Stefan et al.⁶⁸ (2021).

Em relação ao gênero, a parcela da população masculina, apesar de discreta e não significativa, foi maior em relação às frequências percentuais do sexo feminino. Em estudo de Jin et al.¹⁵⁵ (2020), os autores correlacionaram o gênero masculino a piores desfechos clínicos. Estudos de Palaiodimos et al.¹⁵⁶ (2020) também indicaram a relação de obesidade, homens e hospitalização por COVID-19. As pesquisas de Stefan et al.⁶⁸ (2021) indicaram o gênero masculino como fator comórbido para a COVID-19.

A média de internação do GMC3 foi maior que 20 dias para grande parte da amostra, dado já esperado, porém com uma pequena diferença de porcentagem mais alevada para o sexo biológico masculino, sem significancia estatística. Pesquisas de Stefan et al.⁶⁸ (2021) indicaram essa tendência de piores desfechos para o sexo biológico masculino, como mencionado anteriormente.

Ainda também, foi percebido que dos óbitos a coloração da pele descrita como parda foi a mais notada (dado não significativo). Esse achado pode indicar uma tendência dessa característica fenotípica de estar mais relacionada aos piores desfechos em relação a COVID-19, como o óbito. Alguns autores já destacaram em seus estudos que a etnia pode estar associada aos piores desfechos clínicos da COVID-19.^{68,148} Porém, é importante ressaltar que como a pesquisa foi realizada na América Latina, em um país considerado miscigenado, na qual essa é uma característica da população em geral, pode não ser um fator complicador da doença, como é visto, à exemplo, nos casos de hipertensão para pessoas afrodescendentes, como citado em estudo de Ojji et al.¹⁵⁷ (2019) e em revisão de Ogunniyi et al.¹⁵⁸ (2021).

Também pode ser destacado o fato do hospital anuente ser 100% SUS, visto que, além da população estudada ser de um país subdesenvolvido, do qual foram subtraídos dados de um hospital público, assistido pelo SUS, que é regido por um sistema que integra a equidade como um dos seus princípios, com vista a atender sujeitos que integrem um grupo de baixo poder aquisitivo, compilando, em sua maioria, baixa escolaridade, e que por consequência ocorra limitação do acesso à alimentação nutricionalmente adequada. Blüher et al.³⁵ (2019) indicam a associação desses fatores à obesidade, interligando-a ao contexto ambiental e social, além de descreverem o estresse psicossocial como mediador dessa relação entre a vulnerabilidade socioeconômica e risco aumentado de obesidade.

Blüher et al.³⁵ (2019) relatam que a prevalência de obesidade é alta nos indivíduos mais carentes socialmente ou menos escolarizados, a exemplo os autores citam o Brasil e outros países em desenvolvimento, nos quais a prevalência de obesidade em grupos de *status* socioeconômico mais baixo em paralelo com a economia debilitada de um país.

Os pacientes portadores dos genótipos TT do SNP do gene MC4R apresentaram associação estatística significativa a obesidade e a característica fenotípica parda. Apesar de significativo e com resultados condizentes com alguns autores,¹⁵⁹ é necessário cautela visto as características da análise econômica e territorial do país, como citado anteriormente.

Dos parâmetros analisados, principalmente em relação às variantes genéticas, pode ter ocorrido limitação em decorrência do tamanho amostral. O tamanho amostral poderia ser maior, por se tratar de uma doença emergente e de crescimento exponencial. Porém, as limitações e restrições em relação à pandemia impuseram menor alcance de coleta e extrações das amostras.

Os prontuários possuíam informações incompletas, dificultando a tabulação dos dados clínicos e, por vezes, sua escassez; limitando o uso de mais dados clínicos.

Em relação aos parâmetros utilizados para aferição antropométrica, seria interessante considerar a utilização da circunferência da cintura para melhor descrever a obesidade visceral dos pacientes. Porém as limitações em decorrência da COVID-19 não permitiram essa e demais aferições pelos profissionais, sendo utilizado em sua maioria o peso estimado já que os pacientes ficavam isolados e mais restritos ao corpo clínico hospitalar de médicos, fisioterapeutas e enfermeiros.

Ainda assim, o presente estudo pôde corroborar com os dados da comunidade científica que abordam a interlocução da obesidade e da COVID-19. Visto que, trata-se de um estudo consideravelmente promissor, voltando-se para a ligação dos eventos metabólicos de ambas as doenças e buscando características que abordem um denominador comum. Sendo possível a abordagem de prováveis vias da inter-relação da obesidade com a COVID-19, além da possibilidade de acrescentar ao estudo a associação com biomarcadores genéticos que ainda não foram descritos na literatura.

Outros estudos foram realizados com genes relacionados à obesidade, como o gene *FTO* (*fat mass and obesity associated*), demonstrando associação com a COVID-19.¹³⁰ Tendo em vista isso, é válido considerar este e novos estudos que possam comprovar associações genéticas com desfechos da doença, para que se obtenha mais contribuições à ciência e conseqüentemente qualidade de vida à população mundial.

Dessa forma, a pesquisa tem potencial inovador e colabora com futuras pesquisas que abordem a temática e os genes estudados. Sendo, uma das pioneiras a levantarem a hipótese da relação dos genes *MC4R*, *NRXN3* e *LYPLAL1* aos piores desfechos clínicos da COVID-19.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O IMC é um preditor de risco e potencial complicador da COVID-19. Foi encontrada associação da obesidade com piores desfechos clínicos da COVID-19, porém não encontramos os mesmos resultados em relação aos padrões de polimorfismos genéticos dos genes alvos estudados. O tempo de internação hospitalar mais elevado foi associado a obesidade, assim ser obeso conferiu maior tempo hospitalização, considerando admissão e alta hospitalar/óbito, quando comparado aos indivíduos não obesos

Dos demais parâmetros analisados, em relação às variantes genéticas, é válido a necessidade de mais estudos para melhor elucidar a relação desses polimorfismos com o pior desfecho da COVID-19, visto que não foi encontrada significância estatística em relação aos SNPs e o pior desfecho da COVID-19.

Encontramos associação de indivíduos portadores do alelo T do SNP do gene MC4R com a etnia parda e a obesidade, sendo um resultado não esperado no estudo.

REFERÊNCIAS

- 1- Organização Mundial de Saúde (WHO). Histórico da pandemia de COVID-19. Folha informativa sobre COVID-19; OPAS, 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>

- 2-World Health Organization (WHO). Clinical management of COVID-19: interim guidance, 27 May 2020. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332196>. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

- 3- World Health Organization (WHO). WHO Coronavírus (COVID-19) Dashboard, 2022. Disponível em: <https://covid19.who.int/> Acesso em 17 de fevereiro de 2022.

- 4- World Health Organization (WHO). Health Emergency Dashboard. WHO Coronavirus (COVID-19), 2022. Disponível em: <https://covid19.who.int/region/amro/country/br> Acesso em 17 de fevereiro de 2022.

- 5- Ministério da Saúde (BR). Painel de casos de doenças pelo coronavírus 2019 (COVID-19) no Brasil pelo Ministério da Saúde. 2022. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em 17 de fevereiro de 2022.

- 6- Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, 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. *Lancet*. 2014 Aug 30;384(9945):766-81. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60460-8. Epub 2014 May 29. Erratum in: *Lancet*. 2014 Aug 30;384(9945):746. PMID: 24880830; PMCID: PMC4624264.

- 7- World Health Organization (WHO). Obesity And Overweight. Fact sheet N°311, 9 June 2021. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.(https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight)

- 8- Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, Gortmaker SL. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. 2011 Aug 27; 378(9793): 804-14. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60813-1. PMID: 21872749.

9- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). 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. *Lancet*. 2016 Apr 2; 387(10026): 1377-1396. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30054-X. Erratum in: *Lancet*. 2016 May 14; 387(10032): 1998. PMID: 27115820.

10- González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, Després JP, Matsuzawa Y, Loos RJJ, Moreno LA, Bray GA, Martínez JA. Obesity. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 15; 3: 17034. doi: 10.1038/nrdp.2017.34. PMID: 28617414.

11- Jaacks LM, Vandevijvere S, Pan A, McGowan CJ, Wallace C, Imamura F, Mozaffarian D, Swinburn B, Ezzati M. The obesity transition: stages of the global epidemic. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019 Mar; 7(3): 231-240. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30026-9. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30704950; PMCID: PMC7360432.

12- IBGE. Pesquisa nacional de saúde: 2019: atenção primária à saúde e informações antropométricas: Brasil / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

13- Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin-angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *J Nutr Biochem*. 2013; 24(12): 2003-15.

14- Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*. 2017 Jan 19; 376(3): 254-266. doi: 10.1056/NEJMra1514009. PMID: 28099824.

15- Furman D, Campisi J, Verdin E, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. 2019; 25, 1822–1832. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>

16- Khatua B, El-Kurdi B, Patel K, Rood C, Noel P, Crowell M, et al. Adipose saturation reduces lipotoxic systemic inflammation and explains the obesity paradox. *Science Advances*. 2021; 7(5). Doi:10.1126/sciadv.abd6449

17- Zhou Y, Chi J, Lv W, Wang Y. Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). *Diabetes Metab Res Rev*. 2021 Feb; 37(2): e3377. doi: 10.1002/dmrr.3377. Epub 2020 Jul 20. PMID: 32588943; PMCID: PMC7361201.

- 18- Hamer M, Gale CR, Kivimäki M, Batty GD. Overweight, obesity, and risk of hospitalization for COVID-19: A community-based cohort study of adults in the United Kingdom. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Sep 1; 117(35): 21011-21013. doi: 10.1073/pnas.2011086117. Epub 2020 Aug 11. PMID: 32788355; PMCID: PMC7474583.
- 19- Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020 Feb 22; 395(10224): 565-574. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32007145; PMCID: PMC7159086.
- 20- Zheng M, Karki R, Williams EP, Yang D, Fitzpatrick E, Vogel P, Jonsson CB, Kanneganti TD. TLR2 senses the SARS-CoV-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines. *Nat Immunol*. 2021 Jul; 22(7): 829-838. doi: 10.1038/s41590-021-00937-x. Epub 2021 May 7. PMID: 33963333.
- 21- He F, Deng Y, Li W. Coronavirus disease 2019: What we know? *J Med Virol*. 2020 Jul; 92(7): 719-725. doi: 10.1002/jmv.25766. Epub 2020 Mar 28. PMID: 32170865; PMCID: PMC7228340.
- 22- Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021 Apr; 54(2): 159-163. doi: 10.1016/j.jmii.2020.03.022. Epub 2020 Mar 31. PMID: 32265180; PMCID: PMC7138183.
- 23- Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022 Jan; 23(1): 3-20. doi: 10.1038/s41580-021-00418-x. Epub 2021 Oct 5. PMID: 34611326; PMCID: PMC8491763.
- 24- Zipeto D, Palmeira JDF, Argañaraz GA, Argañaraz ER. ACE2/ADAM17/TMPRSS2 Interplay May Be the Main Risk Factor for COVID-19. *Front Immunol*. 2020 Oct 7; 11: 576745. doi: 10.3389/fimmu.2020.576745. PMID: 33117379; PMCID: PMC7575774.
- 25- Zhang, H.; Penninger, JM; Li, Y. *et al*. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020; 46; 586–590. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>
- 26- Lanza K, Perez LG, Costa LB, Cordeiro TM, Palmeira VA, Ribeiro VT, Simões E Silva AC. Covid-19: the renin-angiotensin system imbalance hypothesis. *Clin Sci (Lond)*. 2020 Jun 12; 134(11): 1259-1264. doi: 10.1042/CS20200492. PMID: 32507883; PMCID: PMC7276636.

- 27- de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav.* 2010 Jul 14; 100(5): 525-34. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.03.018. Epub 2010 Apr 8. PMID: 20381510; PMCID: PMC2886177.
- 28- Skov J, Persson F, Frøkiær J, Christiansen JS. Tissue Renin-Angiotensin systems: a unifying hypothesis of metabolic disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014 Feb 28; 5: 23. doi: 10.3389/fendo.2014.00023. PMID: 24592256; PMCID: PMC3938116.
- 29- Murgolo N, Therien AG, Howell B, Klein D, Koeplinger K, Lieberman LA, Adam GC, Flynn J, McKenna P, Swaminathan G, Hazuda DJ, Olsen DB. SARS-CoV-2 tropism, entry, replication, and propagation: Considerations for drug discovery and development. *PLoS Pathog.* 2021 Feb 17; 17(2): e1009225. doi: 10.1371/journal.ppat.1009225. PMID: 33596266; PMCID: PMC7888651.
- 30- Zhang Q, Xiang R, Huo S, Zhou Y, Jiang S, Wang Q, Yu F. Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Jun 11; 6(1): 233. doi: 10.1038/s41392-021-00653-w. PMID: 34117216; PMCID: PMC8193598.
- 31- Gubernatorova EO, Gorshkova EA, Polinova AI, Drutskaya MS. IL-6: Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020 Jun; 53: 13-24. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.009. Epub 2020 May 20. PMID: 32475759; PMCID: PMC7237916.
- 32- Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics.* 2015; 33(7): 673-689.
- 33- Martín E, Moreno JL. Conflictos sobre lo sano: un estudio sociológico de la alimentación en las clases populares en Andalucía. Sevilla: Junta de Andalucía; 2005.
- 34- Levine JA. Poverty and obesity in the U.S. *Diabetes.* 2011;60(11):2667-2668. doi:10.2337/db11-1118
- 35- Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 May;15(5):288-298. doi: 10.1038/s41574-019-0176-8. PMID: 30814686.
- 36 - Reyes Matos U, Mesenburg MA, Victora CG. Socioeconomic inequalities in the

prevalence of underweight, overweight, and obesity among women aged 20-49 in low- and middle-income countries. *Int J Obes (Lond)*. 2020 Mar;44(3):609-616. doi: 10.1038/s41366-019-0503-0. Epub 2019 Dec 18. PMID: 31852998; PMCID: PMC7046525.

37- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA*. 2014 Feb 26; 311(8): 806-14. doi: 10.1001/jama.2014.732. PMID: 24570244; PMCID: PMC4770258.

38- Foreman KJ, Marquez N, Dolgert A, et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories. *Lancet* 2018; 392: 2052–90.

39- GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [published correction appears in *Lancet*. 2019 Jun 22;393(10190):e44] [published correction appears in *Lancet*. 2018 Nov 17;392(10160):2170]. *Lancet*. 2018;392(10159):1736-1788. doi:10.1016/S0140-6736(18)32203-7

40- *Vigitel Brasil 2019 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 137. : il.*

41- Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet*. 2005 Oct 1; 366(9492): 1197-209. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67483-1. PMID: 16198769.

42- Gortmaker SL, Swinburn BA, Levy D, Carter R, Mabry PL, Finegood DT, Huang T, Marsh T, Moodie ML. Changing the future of obesity: science, policy, and action. *Lancet*. 2011 Aug 27; 378(9793): 838-47. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60815-5. PMID: 21872752; PMCID: PMC3417037.

43- Bray GA, Frühbeck G, Ryan DH, Wilding JP. Management of obesity. *Lancet*. 2016 May 7; 387(10031): 1947-56. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00271-3. Epub 2016 Feb 10. PMID: 26868660.

- 44- Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gómez JM, Gutiérrez C, Simón I, Soler J, Richart C. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res.* 2004 Jun; 12(6): 962-71. doi: 10.1038/oby.2004.118. PMID: 15229336.
- 45- Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol.* 2017 Nov; 13(11): 633-643. Doi: 10.1038/nrendo.2017.90. Epub 2017 Aug 11. PMID: 28799554.
- 46- Stubbs CO, Lee AJ. The obesity epidemic: both energy intake and physical activity contribute. *Med J Aust.* 2004 Nov 1; 181(9): 489-91. doi: 10.5694/j.1326-5377.2004.tb06406.x. PMID: 15516193.
- 47- Trayhurn P, Bing C. Appetite and energy balance signals from adipocytes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2006 Jul 29; 361(1471): 1237-49. doi: 10.1098/rstb.2006.1859. PMID: 16815801; PMCID: PMC1642696.
- 48- Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008 Feb; 18(2): 158-68. doi: 10.1016/j.numecd.2007.06.004. Epub 2007 Dec 3. PMID: 18061414.
- 49- Vishvanath L, Gupta RK. Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity. *J Clin Invest.* 2019; 129(10): 4022-4031. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI129191>.
- 50- Maslowska M, Sniderman AD, Germinario R, Cianflone K. ASP stimulates glucose transport in cultured human adipocytes. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997 Apr; 21(4): 261-6. doi: 10.1038/sj.ijo.0800396. PMID: 9130021.
- 51- Maslowska M, Scantlebury T, Germinario R, Cianflone K. Acute in vitro production of acylation stimulating protein in differentiated human adipocytes. *J Lipid Res.* 1997; 38(1): 1-11. PMID: 9034195. Disponível em: [https://www.jlr.org/article/S0022-2275\(20\)37270-9/pdf](https://www.jlr.org/article/S0022-2275(20)37270-9/pdf)
- 52 - Scantlebury T, Maslowska M, Cianflone K. Chylomicron-specific enhancement of acylation stimulating protein and precursor protein C3 production in differentiated human adipocytes. *J Biol Chem.* 1998 Aug 14; 273(33): 20903-9. doi: 10.1074/jbc.273.33.20903. PMID: 9694837.
- 53- Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jun; 89(6): 2548-56. doi: 10.1210/jc.2004-0395. PMID: 15181022.

54- Cassis LA, Saye J, Peach MJ. Location and regulation of rat angiotensinogen messenger RNA. *Hypertension*. 1988; 11: 591-596 Originally published 1 Jun 1988 doi: <https://doi.org/10.1161/01.HYP.11.6.591> *Hypertension*. 1988; 11: 591–596. Disponível em <https://www.ahajournals.org/doi/pdf/10.1161/01.HYP.11.6.591>

55- Dobson DE, Kambe A, Block E, Dion T, Lu H, Castellot JJ Jr, Spiegelman BM. 1-Butyryl-glycerol: a novel angiogenesis factor secreted by differentiating adipocytes. *Cell*. 1990 Apr 20; 61(2): 223-30. doi: 10.1016/0092-8674(90)90803-m. PMID: 1691958.

56- Wilkison WO, Choy L, Spiegelman BM. Biosynthetic regulation of monobutyryl, an adipocyte-secreted lipid with angiogenic activity. *J Biol Chem*. 1991 Sep 5; 266(25): 16886-91. PMID: 1885616.

57- Ailhaud G, Grimaldi P, Nègre R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr*. 1992; 12: 207-33. doi: 10.1146/annurev.nu.12.070192.001231. PMID: 1503804.

58- Rogero, M; Calder, P. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients*, 2018; 10(4); 432–. doi:10.3390/nu10040432

59- Schetz M, De Jong A, Deane AM, Druml W, Hemelaar P, Pelosi P, Pickkers P, Reintam-Blaser A, Roberts J, Sakr Y, Jaber S. Obesity in the critically ill: a narrative review. *Intensive Care Med*. 2019 Jun; 45(6): 757-769. doi: 10.1007/s00134-019-05594-1. Epub 2019 Mar 19. PMID: 30888440.

60- Sorop O, Olver TD, van de Wouw J, Heinonen I, van Duin RW, Duncker DJ, Merkus D. The microcirculation: a key player in obesity-associated cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2017 Jul 1; 113(9): 1035-1045. doi: 10.1093/cvr/cvx093. PMID: 28482008.

61- Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*. 2017; 13(4): 851-863. doi:10.5114/aoms.2016.58928.

62- Jahani M, Dokaneheifard S, Mansouri K. Hypoxia: A key feature of COVID-19 launching activation of HIF-1 and cytokine storm. *J Inflamm (Lond)*. 2020 Oct 29; 17: 33. doi: 10.1186/s12950-020-00263-3. PMID: 33139969; PMCID: PMC7594974.

63- AbdelMassih A, Yacoub E, Husseiny RJ, Kamel A, Hozaien R, El Shershaby M, Rajab M, Yacoub S, Eid MA, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF): The link between obesity and COVID-19. *Obes Med.* 2021 Mar; 22: 100317. doi: 10.1016/j.obmed.2020.100317. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33521378; PMCID: PMC7832240.

64- Maurya R, Sebastian P, Namdeo M, Devender M, Gertler A. COVID-19 Severity in Obesity: Leptin and Inflammatory Cytokine Interplay in the Link Between High Morbidity and Mortality. *Front Immunol.* 2021 Jun 18; 12: 649359. doi: 10.3389/fimmu.2021.649359. PMID: 34220807; PMCID: PMC8250137

65- Guglielmi V, Colangeli L, D'Adamo M, Sbraccia P. Susceptibility and Severity of Viral Infections in Obesity: Lessons from Influenza to COVID-19. Does Leptin Play a Role? *Int J Mol Sci.* 2021 Mar 20;22(6):3183. doi: 10.3390/ijms22063183. PMID: 33804765; PMCID: PMC8003928.

66- NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Rising rural body-mass index is the main driver of the global obesity epidemic in adults. *Nature*, 2019; 569: 260–264. doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1171-x>

67- Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, Cajander S, Shankar-Hari M, Lachmann G, Monneret G, Venet F, Bauer M, et al. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *Lancet Respir Med.* 2021 Jun; 9(6): 622-642. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00218-6. Epub 2021 May 6. PMID: 33965003; PMCID: PMC8102044.

68- Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB. Global pandemics interconnected - obesity, impaired metabolic health and COVID-19. *Nat Rev Endocrinol.* 2021 Mar; 17(3): 135-149. doi: 10.1038/s41574-020-00462-1. Epub 2021 Jan 21. PMID: 33479538.

69- Cooke JP. Endotheliopathy of Obesity. *Circulation.* 2020 Jul 28; 142(4): 380-383. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047574. Epub 2020 Jul 27. PMID: 32718250; PMCID: PMC7391057.

70- Steenblock C, Schwarz PEH, Ludwig B, Linkermann A, Zimmet P, Kulebyakin K, Tkachuk VA, Markov AG, Lehnert H, de Angelis MH, Rietzsch H, Rodionov RN, Khunti K, Hopkins D, Birkenfeld AL, Boehm B, Holt RIG, Skyler JS, DeVries JH, Renard E, Eckel RH, Alberti KGMM, Geloneze B, Chan JC, Mbanya JC, Onyegbutulem HC, Ramachandran A, Basit A, Hassanein M, Bewick G, Spinass GA, Beuschlein F, Landgraf R, Rubino F, Mingrone G, Bornstein SR. COVID-19 and metabolic disease: mechanisms and clinical management. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021 Nov; 9(11): 786-798. doi:

10.1016/S2213-8587(21)00244-8. Epub 2021 Oct 4. PMID: 34619105; PMCID: PMC8489878.

71- Colleluori G, Graciotti L, Pesaresi M, Di Vincenzo A, Perugini J, Di Mercurio E, Caucci S, Bagnarelli P, Zingaretti CM, Nisoli E, Menzo S, Tagliabracci A, Ladoux A, Dani C, Giordano A, Cinti S. Visceral fat inflammation and fat embolism are associated with lung's lipidic hyaline membranes in subjects with COVID-19. *Int J Obes (Lond)*. 2022 Jan 26: 1–9. doi: 10.1038/s41366-022-01071-w. Epub ahead of print. PMID: 35082385; PMCID: PMC8790008.

72- Caci G, Albin A, Malerba M, Noonan DM, Pochetti P, Polosa R. COVID-19 and Obesity: Dangerous Liaisons. *J Clin Med*. 2020 Aug 4; 9(8): 2511. doi: 10.3390/jcm9082511. PMID: 32759719; PMCID: PMC7465218.

73- Ritter A, Kreis NN, Louwen F, Yuan J. Obesity and COVID-19: Molecular Mechanisms Linking Both Pandemics. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 12; 21(16): 5793. doi: 10.3390/ijms21165793. PMID: 32806722; PMCID: PMC7460849.

74- Phan F, Boussouar S, Lucidarme O, Zarai M, Salem JE, Kachenoura N, Bouazizi K, Charpentier E, Niati Y, Bekkaoui H, Amoura Z, Mathian A, Benveniste O, Cacoub P, Allenbach Y, Saadoun D, Lacorte JM, Fourati S, Laroche S, Hartemann A, Bourron O, Andreelli F, Redheuil A; COVID-19 AHPH.SU Group. Cardiac adipose tissue volume and IL-6 level at admission are complementary predictors of severity and short-term mortality in COVID-19 diabetic patients. *Cardiovasc Diabetol*. 2021 Aug 12;20(1):165. doi: 10.1186/s12933-021-01327-1. PMID: 34384426; PMCID: PMC8358546.

75- Sanchis-Gomar F, Lavie CJ, Mehra MR, Henry BM, Lippi G. Obesity and Outcomes in COVID-19: When an Epidemic and Pandemic Collide. *Mayo Clin Proc*. 2020 Jul; 95(7): 1445-1453. doi: 10.1016/j.mayocp.2020.05.006. Epub 2020 May 19. PMID: 32622449; PMCID: PMC7236707.

76- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts k, Walter P, Wilson J, Hunt T. *Biologia. Molecular da Célula*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

77- Yang CW, Li CI, Liu CS, Bau DT, Lin CH, Lin WY, Li TC, Lin CC. The joint effect of cigarette smoking and polymorphisms on LRP5, LEPR, near MC4R and SH2B1 genes on metabolic syndrome susceptibility in Taiwan. *Mol Biol Rep*. 2013 Jan; 40(1): 525-33. doi: 10.1007/s11033-012-2089-7. Epub 2012 Oct 11. PMID: 23054017.

78- Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, and Jackson RB. Membrane structure and function. In Campbell biology, 2011 (10th ed., p. 127). San Francisco, CA: Pearson.

79- Jacobowitz DM, O'Donohue TL. alphaMelanocyte stimulating hormone: immunohistochemical identification and mapping in neurons of rat brain. Proc Natl Acad Sci U S A 1978; 75(12): 6300-4.

80- Gee CE, Chen CL, Roberts JL, Thompson R, Watson SJ. Identification of proopiomelanocortin neurones in rat hypothalamus by in situ cDNA-mRNA hybridization. Nature 1983; 306 (5941): 374-6. doi:<https://doi.org/10.1038/306374a0>

81- Lu D, Willard D, Patel IR, et al. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating hormone receptor. Nature 1994; 371 (6500): 799-802.

82- Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, et al. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. Science 1997; 278(5335): 135-8.

83- Yeo GSH, Chao DHM, Siegert AM, Koerperich ZM, Ericson MD, Simonds SE, Larson CM, Luquet S, et al. The melanocortin pathway and energy homeostasis: From discovery to obesity therapy. Mol Metab. 2021 Jun; 48: 101206. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101206. Epub 2021 Mar 6. PMID: 33684608; PMCID: PMC8050006.

84- Cone RD. The central melanocortin system and energy homeostasis. Trends Endocrinol Metab 1999; 10: 211-6.

85- Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. Nature. 2006 Sep 21; 443(7109): 289-95. doi: 10.1038/nature05026. PMID: 16988703.

86- Silverthorn D. Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada, 7ª Edição, Artmed,. 2017.

87- Mizuno TM, Kleopoulos SP, Bergen HT, Roberts JL, Priest CA, Mobbs CV. Hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA is reduced by fasting and [corrected] in ob/ob and db/db mice, but is stimulated by leptin. Diabetes 1998; 47(2): 294-7.

88- Mizuno TM, Mobbs CV. Hypothalamic agoutirelated protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated by fasting. Endocrinology 1999; 140(2): 814-7.

- 89- Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 2001; 411(6836): 480-4.
- 90- Yang Y, Xu Y. The central melanocortin system and human obesity. *J Mol Cell Biol.* 2020 Oct 1; 12(10): 785-797. doi: 10.1093/jmcb/mjaa048. PMID: 32976556; PMCID: PMC7816681.
- 91- Xiang Z, Proneth B, Dirain ML, Litherland SA, Haskell-Luevano C. Pharmacological characterization of 30 human melanocortin-4 receptor 117 polymorphisms with the endogenous proopiomelanocortin-derived agonists, synthetic agonists, and the endogenous agouti-related protein antagonist derived agonists. *Biochemistry.* 2010. 8; 49(22): 4583-600.
- 92- Lee YS. Melanocortin 3 receptor gene and melanocortin 4 receptor gene mutations: the Asian Perspective. *Diabetes Metab Res Rev.* 2012. Suppl. 2: 26-31.
- 93- Lee M, Wardlaw SL. The central melanocortin system and the regulation of energy balance. *Front Biosci.* 2007; 12: 3994-4010. Published 2007 May 1. doi:10.2741/2366
- 94- Kühnen P, Krude H, Biebermann H. Melanocortin-4 Receptor Signaling: Importance for Weight Regulation and Obesity Treatment. *Trends Mol Med.* 2019 Feb; 25(2): 136-148. doi: 10.1016/j.molmed.2018.12.002. Epub 2019 Jan 11. PMID: 30642682.
- 95- Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GS, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med.* 2003 Mar 20; 348(12): 1085-95. doi: 10.1056/NEJMoa022050. PMID: 12646665.
- 96- Farooqi IS, O'Rahilly S. Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med.* 2005; 56: 443-58. doi: 10.1146/annurev.med.56.062904.144924. PMID: 15660521.
- 97- Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Snyder EE, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res.* 2005Mar; 13(3): 381-490. doi: 10.1038/oby.2005.50. PMID: 15833932.
- 98- Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetic factors in human obesity. *Obes Rev.* 2007 Mar; 8 Suppl 1: 37-40. doi: 10.1111/j.1467-789X.2007.00315.x. PMID: 17316299.

- 99- Choquet H, Meyre D. Genomic insights into early-onset obesity. *Genome Med.* 2010. 23; 2(6): 36.
- 100- Obregón AM, Oyarce K, Santos JL, Valladares M, Goldfield G. Association of the melanocortin 4 receptor gene rs17782313 polymorphism with rewarding value of food and eating behavior in Chilean children. *J Physiol Biochem.* 2017 Feb; 73(1): 29-35. doi: 10.1007/s13105-016-0521-5. Epub 2016 Oct 11. PMID: 27730429.
- 101- Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, Inouye M, Freathy RM, Attwood AP, Beckmann JS, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 2008 Jun; 40(6): 768-75. doi: 10.1038/ng.140. Epub 2008 May 4. PMID: 18454148; PMCID: PMC2669167.
- 102- Beckers S, Zegers D, de Freitas F, Mertens IL, Van Gaal LF, Van Hul W. Association study of MC4R with complex obesity and replication of the rs17782313 association signal. *Mol Genet Metab.* 2011 May; 103(1): 71-5. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.01.007. Epub 2011 Jan 22. PMID: 21303735.
- 103- Kasem E, Kurihara T, Tabuchi K. Neurexins and neuropsychiatric disorders. *Neurosci Res.* 2018 Feb; 127: 53-60. doi: 10.1016/j.neures.2017.10.012. Epub 2017 Dec 6. PMID: 29221905.
- 104- Gomez AM, Traunmüller L, Scheiffele P. Neurexins: molecular codes for shaping neuronal synapses. *Nat Rev Neurosci.* 2021 Mar; 22(3): 137-151. doi: 10.1038/s41583-020-00415-7. Epub 2021 Jan 8. PMID: 33420412
- 105- Baig DN, Yanagawa T, Tabuchi K. Distortion of the normal function of synaptic cell adhesion molecules by genetic variants as a risk for autism spectrum disorders. *Brain Res Bull.* 2017 Mar; 129: 82-90. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.10.006. Epub 2016 Oct 12. PMID: 27743928.
- 106- Cao X, Tabuchi K.. Functions of synapse adhesion molecules neurexin/neuroligins and neurodevelopmental disorders. *Neurosci Res.* 2017 Mar; 116: 3-9. doi: 10.1016/j.neures.2016.09.005. Epub 2016 Sep 21. PMID: 27664583.
- 107- Matsuda K, Budisantoso T, Mitakidis N, Sugaya Y, Miura E, Kakegawa W, Yamasaki M, Konno K, Uchigashima M, Abe M, Watanabe I, Kano M, Watanabe M, Sakimura K, Aricescu AR, Yuzaki M. Transsynaptic Modulation of Kainate Receptor Functions by C1q-like Proteins. *Neuron.* 2016 May 18; 90(4): 752-67. doi: 10.1016/j.neuron.2016.04.001. Epub 2016 Apr 28. PMID: 27133466.

- 108- Boxer EE, Seng C, Lukacsovich D, Kim J, Schwartz S, Kennedy MJ, Földy C, Aoto J. Neurexin-3 defines synapse- and sex-dependent diversity of GABAergic inhibition in ventral subiculum. *Cell Rep.* 2021 Dec 7; 37(10): 110098. doi: 10.1016/j.celrep.2021.110098. PMID: 34879268.
- 109- Aoto J, Földy C, Ilcus SM, Tabuchi K, Südhof TC. Distinct circuit-dependent functions of presynaptic neurexin-3 at GABAergic and glutamatergic synapses. *Nat Neurosci.* 2015 Jul; 18(7): 997-1007. doi: 10.1038/nn.4037. Epub 2015 Jun 1. PMID: 26030848; PMCID: PMC4482778.
- 110- Heard-Costa NL, Zillikens MC, Monda KL, Johansson Å, Harris TB, Fu M, et al. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. *PLoS Genet.* 2009 Jun; 5(6): e1000539. doi: 10.1371/journal.pgen.1000539. Epub 2009 Jun 26. PMID: 19557197; PMCID: PMC2695005.
- 111- Bille DS, Banasik K, Justesen JM, et al. Implications of central obesity-related variants in LYPLAL1, NRXN3, MSRA, and TFAP2B on quantitative metabolic traits in adult Danes. *PLoS One.* 2011; 6(6): e20640. doi:10.1371/journal.pone.0020640
- 112- Sandholt CH, Hansen T, Pedersen O. Beyond the fourth wave of genome-wide obesity association studies. *Nutr Diabetes.* 2012; 2(7): e37. Published 2012 Jul 30. doi:10.1038/nutd.2012.9
- 113- Wang K, Li WD, Zhang CK, Wang Z, Glessner JT, Grant SF, Zhao H, Hakonarson H, Price RA. A genome-wide association study on obesity and obesity-related traits [published correction appears in *PLoS One.* 2012; 7(2). doi: 10.1371/annotation/a34ce94e-3e6a-48bd-a19e-398a4bb88580]. *PLoS One.* 2011; 6(4): e18939. Published 2011 Apr 28. doi:10.1371/journal.pone.0018939 PMID: 21552555; PMCID: PMC3084240.
- 114- Ibáñez-Zamacona ME, Poveda A, Rebato E. Contribution of obesity associated genetic variants to anthropometric somatotype components. *Anthropol Anz.* 2019; 76(2): 101-111. doi:10.1127/anthranz/2019/0945
- 115- Steinberg GR, Kemp BE, Watt MJ. Adipocyte triglyceride lipase expression in human obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007 Oct; 293(4): E958-64. doi: 10.1152/ajpendo.00235.2007. Epub 2007 Jul 3. PMID: 17609260.

116- Tian L, McClafferty H, Knaus HG, Ruth P, Shipston MJ. Distinct acyl protein transferases and thioesterases control surface expression of calcium-activated potassium channels. *J Biol Chem*. 2012; 287(18): 14718-14725. doi:10.1074/jbc.M111.335547

117- Bürger M, Zimmermann TJ, Kondoh Y, Stege P, Watanabe N, Osada H, Waldmann H, Vetter IR. Crystal structure of the predicted phospholipase LYPLAL1 reveals unexpected functional plasticity despite close relationship to acyl protein thioesterases. *J Lipid Res*. 2012 Jan; 53(1): 43-50. doi: 10.1194/jlr.M019851. Epub 2011 Nov 3. PMID: 22052940; PMCID: PMC3243480.

118- Hawrylycz MJ, Lein ES, Guillozet-Bongaarts AL, Shen EH, Ng L, Miller JA, van de Lagemaat LN, Smith KA, et al. An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature*. 2012 Sep 20; 489(7416): 391-399. doi: 10.1038/nature11405. PMID: 22996553; PMCID: PMC4243026.

119- Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*. 2001;104: 531–543. DOI: 10.1016/s0092-8674(01)00240-9

120- Wang T, Ma X, Peng D, Zhang R, Sun X, Chen M, Yan J, Wang S, Yan D, He Z, Jiang F, Bao Y, Hu C, Jia W. Effects of Obesity Related Genetic Variations on Visceral and Subcutaneous Fat Distribution in a Chinese Population. *Sci Rep*. 2016 Feb 5; 6: 20691. doi: 10.1038/srep20691. PMID: 26848030; PMCID: PMC4742921.

121- Li J, Fu R, Yang Y, Horz HP, Guan Y, Lu Y, Lou H, Tian L, Zheng S, Liu H, Shi M, Tang K, Wang S, Xu S. A metagenomic approach to dissect the genetic composition of enterotypes in Han Chinese and two Muslim groups. *Syst Appl Microbiol*. 2018 Jan; 41(1): 1-12. doi: 10.1016/j.syapm.2017.09.006. Epub 2017 Nov 10. PMID: 29129355.

122- Norheim F, Hasin-Brumshtein Y, Vergnes L, Chella Krishnan K, Pan C, et al. Gene-by-Sex Interactions in Mitochondrial Functions and Cardio-Metabolic Traits. *Cell Metab*. 2019 Apr 2; 29(4): 932-949.e4. doi: 10.1016/j.cmet.2018.12.013. Epub 2019 Jan 10. PMID: 30639359; PMCID: PMC6447452.

123- Lei X, Callaway M, Zhou H, Yang Y, Chen W. Obesity associated Lyplal1 gene is regulated in diet induced obesity but not required for adipocyte differentiation. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Aug 15; 411: 207-13. doi: 10.1016/j.mce.2015.05.001. Epub 2015 May 6. PMID: 25958046.

124- Tamura T, Morita E, Kawai S, Sasakabe T, Fukuda N, Sugimoto Y, Suma S, Mokuno J, Nakagawa H, Hishida A, Okada R, Naito M, Hamajima N, Wakai K. Significant Associations

of Abdominal Obesity with LYPLAL1 Polymorphism (rs4846567) among a General Japanese Population: A Cross-Sectional Study. *International Journal of Epidemiology*, 2015; 44(suppl_1): i243–i244. doi:10.1093/ije/dyv096.441

125- Lindgren CM, Heid IM, Randall JC, Lamina C, Steinthorsdottir V, Qi L, Speliotes EK, Thorleifsson G, Willer CJ, Herrera BM, Jackson AU, Lim N, Scheet P, Soranzo N, Amin N, Aulchenko YS, Chambers JC, Drong A, Luan J, Lyon HN, Rivadeneira F, Sanna S, Timpson NJ, Zillikens MC, Zhao JH, Almgren P, Bandinelli S, Bennett AJ, Bergman RN, Bonnycastle LL, Bumpstead SJ, Chanock SJ, Cherkas L, et al. Genome-wide association scan meta-analysis identifies three Loci influencing adiposity and fat distribution. *PLoS Genet*. 2009 Jun; 5(6): e1000508. doi: 10.1371/journal.pgen.1000508. Epub 2009 Jun 26. Erratum in: *PLoS Genet*. 2009 Jul;5(7). doi: 10.1371/annotation/b6e8f9f6-2496-4a40-b0e3-e1d1390c1928. PMID: 19557161; PMCID: PMC2695778.

126- Heid IM, Jackson AU, Randall JC, Winkler TW, Qi L, Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, et al. Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution. *Nat Genet*. 2010 Nov;42(11):949-60. doi: 10.1038/ng.685. Epub 2010 Oct 10. Erratum in: *Nat Genet*. 2011 Nov;43(11):1164. PMID: 20935629; PMCID: PMC3000924.

127- Randall JC, Winkler TW, Kutalik Z, Berndt SI, Jackson AU, Monda KL, Kilpeläinen TO, Esko T, Mägi R, Li S, Workalemahu T, Feitosa MF, Croteau-Chonka DC, Day FR, Fall T, et al. Sex-stratified genome-wide association studies including 270,000 individuals show sexual dimorphism in genetic loci for anthropometric traits. *PLoS Genet*. 2013 Jun; 9(6): e1003500. doi: 10.1371/journal.pgen.1003500. Epub 2013 Jun 6. PMID: 23754948; PMCID: PMC3674993.

128- Kok BP, Ghimire S, Kim W, Chatterjee S, Johns T, Kitamura S, Eberhardt J, Ogasawara D, Xu J, Sukiasyan A, et al. Discovery of small-molecule enzyme activators by activity-based protein profiling. *Nat Chem Biol*. 2020 Sep;16(9): 997-1005. doi: 10.1038/s41589-020-0555-4. Epub 2020 Jun 8. PMID: 32514184; PMCID: PMC7442688.

129- WHO. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: interim guidance, 2020. WHO reference number: WHO/2019-nCoV/clinical/2020.5

130. Zhang X, Hao H, Ma L, et al. Methyltransferase-like 3 Modulates Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA N6-Methyladenosine Modification and Replication. *mBio*. 2021;12(4):e0106721. doi:10.1128/mBio.01067-21

- 131- COVID-19 Host Genetics Initiative. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. *Eur J Hum Genet.* 2020 Jun;28(6):715-718. doi: 10.1038/s41431-020-0636-6. Epub 2020 May 13. PMID: 32404885; PMCID: PMC7220587.
- 132- COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature* 600, 472–477 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03767-x>
- 133- Souza IR, Toni DC, Cordeiro J. *Genética evolutiva. – Florianópolis : BIOLOGIA/EAD/UFSC, 2011.*
- 134- Abramovs N, Brass A, Tassabehji M. Hardy-Weinberg Equilibrium in the Large Scale Genomic Sequencing Era. *Front Genet.* 2020 Mar 13;11:210. doi: 10.3389/fgene.2020.00210. PMID: 32231685; PMCID: PMC7083100.
- 135- Sun L, Gan J, Jiang L, Wu R. Recursive Test of Hardy-Weinberg Equilibrium in Tetraploids. *Trends Genet.* 2021 Jun;37(6):504-513. doi: 10.1016/j.tig.2020.11.006. Epub 2020 Dec 16. PMID: 33341281.
- 136- Cai Q, Chen F, Wang T, Luo F, Liu X, Wu Q, He Q, Wang Z, Liu Y, Liu L, Chen J, Xu L. Obesity and COVID-19 Severity in a Designated Hospital in Shenzhen, China. *Diabetes Care.* 2020 Jul; 43(7): 1392-1398. doi: 10.2337/dc20-0576. Epub 2020 May 14. PMID: 32409502.
- 137- Prospective Studies Collaboration, Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Collins R, Peto R. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet.* 2009 Mar 28;373(9669):1083-96. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60318-4. Epub 2009 Mar 18. PMID: 19299006; PMCID: PMC2662372.
- 138- Bhaskaran K, Dos-Santos-Silva I, Leon DA, Douglas IJ, Smeeth L. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3·6 million adults in the UK. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018 Dec;6(12):944-953. doi: 10.1016/S2213-8587(18)30288-2. Epub 2018 Oct 30. PMID: 30389323; PMCID: PMC6249991.
- 139- Huang Y, Lu Y, Huang YM, Wang M, Ling W, Sui Y, Zhao HL. Obesity in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism.* 2020 Dec; 113: 154378. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154378. Epub 2020 Sep 28. PMID: 33002478; PMCID: PMC7521361.

- 140- Piroth L, Cottenet J, Mariet AS, Bonniaud P, Blot M, Tubert-Bitter P, Quantin C. Comparison of the characteristics, morbidity, and mortality of COVID-19 and seasonal influenza: a nationwide, population-based retrospective cohort study. *Lancet Respir Med*. 2021 Mar; 9(3): 251-259. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30527-0. Epub 2020 Dec 17. PMID: 33341155; PMCID: PMC7832247.
- 141- Wang Y, Xu J, Wang Y, Hou H, Feng H, Yang H. An updated meta-analysis on the relationship between obesity and COVID-19 mortality. *Metabolism*. 2021 Sep; 122: 154820. doi: 10.1016/j.metabol.2021.154820. Epub 2021 Jun 29. PMID: 34171346; PMCID: PMC8239205.
- 142- Nakeshbandi M, Maini R, Daniel P, Rosengarten S, Parmar P, Wilson C, Kim JM, Oommen A, Mecklenburg M, Salvani J, Joseph MA, Breitman I. The impact of obesity on COVID-19 complications: a retrospective cohort study. *Int J Obes (Lond)*. 2020 Sep; 44(9): 1832-1837. doi: 10.1038/s41366-020-0648-x. Epub 2020 Jul 25. PMID: 32712623; PMCID: PMC7382318.
- 143- Organização Mundial de Saúde (OMS). Obesity: Preventing And Managing The Global Epidemic. Report Of A Who Consultation (Who Technical Report Series 894). Genebra, Suíça: Organização Mundial Da Saúde, 2000.
- 144- Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB, Ludwig DS. Obesity and impaired metabolic health in patients with COVID-19. *Nat Rev Endocrinol*. 2020 Jul; 16(7): 341-342. doi: 10.1038/s41574-020-0364-6. PMID: 32327737; PMCID: PMC7187148.
- 145- Blackshaw J, Feeley A, Mabbs L, Niblett P, Atherton E, Elsom R, Hung E, Tedstone A, et al. Public Health England. Excess Weight and COVID-19 Insights from new evidence. London 2020. Disponível em https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/907966/PHE_insight_Excess_weight_and_COVID-19_FINAL.pdf
- 146- Korakas E, Ikonomidis I, Kousathana F, Balampanis K, Kountouri A, Raptis A, Palaiodimou L, Kokkinos A, Lambadiari V. Obesity and COVID-19: immune and metabolic derangement as a possible link to adverse clinical outcomes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2020 Jul 1; 319(1): E105-E109. doi: 10.1152/ajpendo.00198.2020. Epub 2020 May 27. PMID: 32459524; PMCID: PMC7322508.

147- Anderson MR, Geleris J, Anderson DR, Zucker J, Nobel YR, Freedberg D, Small-Saunders J, Rajagopalan KN, Greendyk R, Chae SR, Natarajan K, Roh D, Edwin E, Gallagher D, Podolanczuk A, Barr RG, Ferrante AW, Baldwin MR. Body Mass Index and Risk for Intubation or Death in SARS-CoV-2 Infection : A Retrospective Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2020 Nov 17; 173(10): 782-790. doi: 10.7326/M20-3214. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32726151; PMCID: PMC7397550.

148- Suleyman G, Fadel RA, Malette KM, Hammond C, Abdulla H, Entz A, Demertzis Z, Hanna Z, Failla A, Dagher C, Chaudhry Z, Vahia A, Abreu Lanfranco O, Ramesh M, Zervos MJ, Alangaden G, Miller J, Brar I. Clinical Characteristics and Morbidity Associated With Coronavirus Disease 2019 in a Series of Patients in Metropolitan Detroit. *JAMA Netw Open.* 2020 Jun 1; 3(6): e2012270. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.12270. PMID: 32543702; PMCID: PMC7298606.

149- Landecho MF, Marin-Oto M, Recalde-Zamacona B, Bilbao I, Frühbeck G. Obesity as an adipose tissue dysfunction disease and a risk factor for infections - Covid-19 as a case study. *Eur J Intern Med.* 2021 Sep; 91: 3-9. doi: 10.1016/j.ejim.2021.03.031. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33858724; PMCID: PMC8017564.

150- Ritchie H, Mathieu E, Rodés-Guirao L, Appel C, Giattino C, Ortiz-Ospina E, Hasell J, Macdonald B, Beltekian D and Roser M. "Coronavirus Pandemic (COVID-19)". *Our World In Data*. Published online at [OurWorldInData.org](https://ourworldindata.org). 2022. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/coronavirus>' [Online Resource]

151- Perrotta F, Corbi G, Mazzeo G, Boccia M, Aronne L, D'Agnano V, Komici K, Mazzarella G, Parrella R, Bianco A. Correction to: COVID-19 and the elderly patients: insights into pathogenesis and clinical decision-making. *Aging Clin Exp Res.* 2020 Sep; 32(9): 1909. doi: 10.1007/s40520-020-01700-2. Erratum for: *Aging Clin Exp Res.* 2020 Aug;32(8):1599-1608. PMID: 32902821; PMCID: PMC7479295.

152- Pietrobon AJ, Teixeira FME, Sato MN. Immunosenescence and Inflammaging: Risk Factors of Severe COVID-19 in Older People. *Front Immunol.* 2020 Oct 27; 11: 579220. doi: 10.3389/fimmu.2020.579220. PMID: 33193377; PMCID: PMC7656138.

153- Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala NM, Li T, Margolick JB, Pawelec G, Leng SX. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res Rev.* 2021 Jan; 65: 101205. doi: 10.1016/j.arr.2020.101205. Epub 2020 Oct 31. PMID: 33137510; PMCID: PMC7604159.

154- Müller L, Di Benedetto S. How Immunosenescence and Inflammaging May Contribute to Hyperinflammatory Syndrome in COVID-19. *Int J Mol Sci.* 2021 Nov 21; 22(22): 12539. doi: 10.3390/ijms222212539. PMID: 34830421; PMCID: PMC8618618.

155- Jin JM, Bai P, He W, Wu F, Liu XF, Han DM, Liu S, Yang JK. Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. *Front Public Health.* 2020 Apr 29; 8: 152. doi: 10.3389/fpubh.2020.00152. PMID: 32411652; PMCID: PMC7201103.

156- Palaiodimos L, Kokkinidis DG, Li W, Karamanis D, Ognibene J, Arora S, Southern WN, Mantzoros CS. Severe obesity, increasing age and male sex are independently associated with worse in-hospital outcomes, and higher in-hospital mortality, in a cohort of patients with COVID-19 in the Bronx, New York. *Metabolism.* 2020 Jul; 108: 154262. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154262. Epub 2020 May 16. PMID: 32422233; PMCID: PMC7228874.

157- Ojji DB, Mayosi B, Francis V, Badri M, Cornelius V, Smythe W, Kramer N, Barasa F, Damasceno A, Dzudie A, Jones E, Mondo C, Ogah O, Ogola E, Sani MU, Shedul GL, Shedul G, Rayner B, Okpechi IG, Sliwa K, Poulter N; CREOLE Study Investigators. Comparison of Dual Therapies for Lowering Blood Pressure in Black Africans. *N Engl J Med.* 2019 Jun 20; 380(25): 2429-2439. doi: 10.1056/NEJMoa1901113. Epub 2019 Mar 18. PMID: 30883050.

158- Ogunniyi MO, Commodore-Mensah Y, Ferdinand KC. Race, Ethnicity, Hypertension, and Heart Disease: JACC Focus Seminar 1/9. *J Am Coll Cardiol.* 2021 Dec 14; 78(24): 2460-2470. doi: 10.1016/j.jacc.2021.06.017. PMID: 34886968.

159- Yates T, Zaccardi F, Islam N, Razieh C, Gillies CL, Lawson CA, Chudasama Y, Rowlands A, Davies MJ, Docherty AB, Openshaw PJM, Baillie JK, Semple MG; ISARIC4C investigators, Khunti K. Obesity, Ethnicity, and Risk of Critical Care, Mechanical Ventilation, and Mortality in Patients Admitted to Hospital with COVID-19: Analysis of the ISARIC CCP-UK Cohort. *Obesity (Silver Spring).* 2021 Jul;29(7):1223-1230. doi: 10.1002/oby.23178. Epub 2021 May 14. PMID: 33755331; PMCID: PMC8251439.

APÉNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES MOLECULARES E IMPACTO DA ETNIA NO PROGNÓSTICO DA COVID-19”**. Pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do material biológico humano “DNA, plasma”. A utilização do seu material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se Sr. (a) concordar em outros futuros. Nesta pesquisa pretendemos “Avaliar a relação do agravamento da COVID-19 com biomarcadores, etnia, fatores socioeconômicos e fatores nutricionais”. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: “Coleta de sangue total (8 ml) ou coleta de material via swab bucal, com posterior extração de DNA de células coletadas. O DNA extraído e o plasma será devidamente etiquetado, armazenado em freezer -80°C e será **utilizado somente para os propósitos dessa pesquisa**”. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem no “desconforto associado à coleta de sangue, o habitual de um exame de sangue de rotina. A coleta será realizada com material esterilizado, descartável e por pessoas devidamente treinadas e capacitadas para a realização do procedimento. Dessa forma, **essa pesquisa oferece riscos mínimos ao participante, aqueles inerentes à própria coleta de sangue total, tais como dor, hematoma ou outro desconforto no local da coleta. Todos cuidados necessários para minimizar esses riscos serão tomados durante a coleta. Além disso, gostaríamos de sua autorização para acesso aos prontuários e exames de imagem armazenados no hospital**. A pesquisa contribuirá para “o melhor entendimento dos fatores que contribuem para o agravamento da COVID-19”.

Para participar deste estudo o Sr. (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito à indenização. O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir de seu material biológico, estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O (A) Sr. (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no "Laboratório de Genética Molecular da UFMG", e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de até 10 (dez) anos na sala 114 da Faculdade de Medicina da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa “**CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES MOLECULARES E IMPACTO DA ETNIA NO PROGNÓSTICO DA COVID-19**”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

() Concordo que o meu material biológico seja utilizado somente para esta pesquisa. () Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisa, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do participante

Data

Assinatura do participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Luciana Bastos Rodrigues
 Endereço: Avenida Alfredo Balena, 190 - Sala 114 - Faculdade de Medicina da
 UFMG CEP: 30130-100 / Belo Horizonte – MG
 Telefones: (31) 34099134
 E-mail: lu.bastosr@gmail.com

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Nome completo do Pesquisador: Lorena Medeiros Batista
 Endereço: Avenida Alfredo Balena, 190 - Sala 114 - Faculdade de Medicina da
 UFMG CEP: 30130-100 / Belo Horizonte – MG
 Telefones: (31) 34099134
 E-mail: lorenamedeiros@gmail.com

Assinatura do pesquisador (mestrando ou doutorando)

Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:
COEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG
 Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005.
 Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.
 E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: 34094592.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O Sr.(a) Responsável pelo(a) participante está sendo convidado(a) de forma voluntária a permitir que o(a) paciente participe da pesquisa **“BIOMARCADORES E ETNIA: IMPACTO NO PROGNÓSTICO DA COVID-19”**. Pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e o descarte do material biológico humano **“DNA, plasma”** do(a) participante. A utilização do material biológico do(a) participante está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se o(a) Sr. (a), ou o(a) participante, quando consciente, concordar em outros futuros. Nesta pesquisa pretendemos **“Avaliar a relação do agravamento da COVID-19 com biomarcadores, etnia, fatores socioeconômicos e fatores nutricionais”**. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: **“Coleta de sangue total (8 ml) ou coleta de material via swab bucal, com posterior extração de DNA de células coletadas. O DNA extraído e o plasma será devidamente etiquetado, armazenado em freezer -80°C e será utilizado somente para os propósitos dessa pesquisa”**. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem no **“desconforto associado à coleta de sangue, o habitual de um exame de sangue de rotina. A coleta será realizada com material esterilizado, descartável e por pessoas devidamente treinadas e capacitadas para a realização do procedimento. Dessa forma, essa pesquisa oferece riscos mínimos ao(à) participante, aqueles inerentes à própria coleta de sangue total, tais como dor, hematoma ou outro desconforto no local da coleta. Todos cuidados necessários para minimizar esses riscos serão tomados durante a coleta. Além disso, gostaríamos de sua autorização para acesso aos prontuários e exames de imagem armazenados no hospital. A pesquisa contribuirá para “o melhor entendimento dos fatores que contribuem para o agravamento da COVID-19”**.

Para participar deste estudo o Sr. (a) e o(a) participante não terão nenhum custo, nem receberão qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o participante tem assegurado o direito à indenização. O(a) Sr. (a) responsável pelo participante terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para aceitar ou recusar a permissão de participação e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A permissão do(a) Sr.(a) responsável em permitir a participação do paciente é voluntária, e a recusa em permitir não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o(a) Sr. (a) é atendido(a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir do material biológico do participante, estarão à sua disposição quando finalizados. Seu nome ou o material que indique a participação do participante não será liberado sem a sua permissão. O(a) Sr.(a) e o participante não serão identificados(a)s em nenhuma publicação que possa resultar. Vale lembrar que todos os direitos de decisão do responsável pelo paciente, também são assegurados ao participante quando consciente.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no **“Laboratório de Genética Molecular da UFMG”**, e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de **até 10 (dez) anos** na sala 114 da Faculdade de Medicina da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____, responsável legal do participante, _____, portador do documento de Identidade, _____, fui informado(a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa **“BIOMARCADORES E ETNIA: IMPACTO NO PROGNÓSTICO DA**

COVID-19”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

- () Concordo que o material biológico do participante seja utilizado somente para esta pesquisa.
 () Concordo que o material biológico do participante possa ser utilizado em outras pesquisa, mas comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.

Declaro que concordo em permitir a participação do paciente, portador do documento _____ nesta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do responsável pelo participante Data

Assinatura do responsável pelo participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Luciana Bastos Rodrigues

Endereço: Avenida Alfredo Balena, 190 - Sala 114 - Faculdade de Medicina da UFMG

CEP: 30130-100 / Belo Horizonte – MG

Telefones: (31) 34099134

E-mail: lu.bastosr@gmail.com

Assinatura do pesquisador responsável Data

Nome completo do Pesquisador: Lorena Medeiros Batista

Endereço: Avenida Alfredo Balena, 190 - Sala 114 - Faculdade de Medicina da UFMG

CEP: 30130-100 / Belo Horizonte – MG

Telefones: (31) 34099134

E-mail: lorenamedeiros@gmail.com

Assinatura do pesquisador (mestrando ou doutorando) Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

COEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005.

Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: 34094592.

APÊNDICE B**ARTIGO ORIGINAL**

**OBESIDADE E POLIMORFISMOS DOS GENES *MC4R*, *NRXN3* E *LYPLAL1*,
ASSOCIADOS AOS DESFECHOS CLÍNICOS DE PACIENTES COM COVID-19**

Original article

Obesity and Polymorphism of *MC4R*, *NRXN3* and *LYPLAL1* Genes Associated with Clinical Outcomes of Patients with Covid-19

Lorena Medeiros Batista^{1,2}, Renan Pedra Souza³, Luciana Bastos Rodrigues^{2,4*}

¹Master Student, Department of Nutrition, College of Nursing, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ²Molecular Medicine Technology Center, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ³Laboratory of Integrative Biology, Department of Genetics, Ecology and Evolution, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ⁴Department of Nutrition, College of Nursing, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

***Corresponding author:** Luciana Rodrigues ORCID:<http://orcid.org/0000-0002-9053-7201>
Department of Nutrition, Federal University of Minas Gerais, Street Alfredo Balena, 190 - Room 114 - UFMG Medical School / Belo Horizonte - MG, Zip Code: 30130-100, Brazil.
Tel: +55 (31) 34099134, Fax: +55 (31) 34099134, E-mail: lu.bastosr@gmail.com

Running title: Obesity, SNPs and clinical outcomes of COVID-19

Abstract count: 247

Number of figures and tables: 5

Abstract and Keywords

Background: COVID-19, caused by the SARS-CoV-2 coronavirus in 2020, with high transmission and mortality rates, is the pandemic of the century. There is a trend of patients with obesity being at higher risk of the severe form of COVID-19. With this interconnection and aiming for better descriptions and associations of the MC4R, NRXN3, and LYPLAL1 genes, there is a need to perform analyses of these variants and obesity with worse outcomes of COVID-19.

Methods: A longitudinal prospective, cross-sectional cohort study was conducted. The research was conducted in a reference hospital in Brazil. Peripheral blood samples were collected from 108 adult patients, of both biological sexes, diagnosed with COVID-19. Clinical data were extracted from medical records. DNA samples underwent laboratory genotyping analysis to analyze the polymorphisms: rs17782313 (MC4R), rs10146997 (NRXN3) and rs4846567 (LYPLAL1). The significance level adopted was $p < 0.05$.

Results: It was observed that 78% of obese patients were classified in the most advanced management group (CMG 3, $p < 0.05$), and the longest hospital stay was verified in the obese patients, $p < 0.05$. Of the patients who died, 59% were obese ($p < 0.05$). No association was observed between the polymorphisms studied with the worst clinical outcome of the disease.

Conclusion: Nutritional status was shown to be indicative of poor prognosis for COVID-19 cases ($p < 0.05$). No associations were found between the genetic variants studied with the worst outcome of COVID-19 ($p > 0.05$).

Keywords: Obesity, COVID-19, SARS-CoV-2, MC4R, Lysophospholipase.

MANUSCRIPT

Introduction

The new coronavirus appeared in December 2019, in the Asian continent, in China, in the capital of the Hubei province, Wuhan.^{1,2} And it was characterized as a Public Health Emergency of International Importance.^{1,2} On March 11, 2020, the new strain was identified as coronavirus 2019, causing coronavirus severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), being then granted as a pandemic by WHO on that date.¹

COVID-19 has affected more than 380 million people worldwide, with more than 5 million deaths recorded.³ In Brazil, there are about 25 million reported cases, with more than 628,000 confirmed deaths, with a lethality rate of 2.4 %.^{4,5}

SARS-CoV-2 arises in the midst of another disease of great proportion, obesity, with almost 2 billion people affected worldwide,^{6,7} with a historical exponential growth in rates since the 1970s.⁸ In Brazil, more than 50% of the adult population is overweight.⁹

Considering the reach of a pandemic context, added to the chronic subclinical inflammatory process characteristic of overweight,¹⁰ overweight and obesity become an important access point for the etiology of other diseases, such as chronic non-communicable diseases¹¹⁻¹³ and the infectious, highlighting the COVID-19,¹⁴ an emerging disease of high complexity and mortality, justifying the need for more studies on the consequences and their direct or indirect relationships with other diseases.¹⁴

Both, COVID-19 and obesity represent a challenge to global health. The increasing prevalence of overweight has been a harbinger of a burden of disease for the world population, depreciating the health system and generating morbidity and mortality.¹¹ Characteristics that are also present in COVID-19.¹⁴

The containment of a pandemic requires multi-level solutions, in an integrated way, from individual intervention, with multidisciplinary actions, to a broad policy of scientific investment. In addition to integrated attention regarding its pathophysiological characteristics, with potential determinants of deleterious consequences and interconnection with other diseases.

Thus, it is valid to consider research that encompass these two pathological variables in order to contribute to the scientific community and, consequently, to the quality of life of the population.

Thus, we set out to investigate the association of obesity-related genes with the clinical outcome of COVID-19. To this end, we investigated alterations in LYPLAL1, NRXN3 and MC4R genes in Brazilian patients with COVID-19 and correlated the genetic findings with clinical outcomes.

In view of the literature, it is clear that the inflammation characteristic of the obese state is harmful, and that it affects the quality of life in all aspects for the subject; it can worsen the outcome of possible seasonal complications, such as the flu, or even lead to death by negligence and the onset of chronic non-communicable diseases due to its complications.¹⁰⁻¹³

Mutations in the MC4R gene is one of the most common recognized rare monogenic forms of obesity.¹¹ The inclusion of this SNP in the research is consistent with the objectives pursued, since it is a gene that is closely related to obesity.¹¹

Regarding the NRXN3 gene, authors make associations to impulsive behavior, reward system, waist-to-hip ratio linked to body composition and body weight, considering significant contributions to obesity.¹⁵⁻¹⁷ Research that addresses the use of this gene may lend further support to the literature to better understand cases where obese people are more susceptible targets for diseases such as COVID-19.

Although research with the LYPLAL1 gene still remains limited regarding its metabolic pathway, studies^{18, 19,20} suggest associations with metabolic dysfunctions. In view of this, the current research could elucidate the correlation of LYPLAL1 presence and higher disease severity.

Given the above, the study of new prognostic biomarkers and risk predictors for COVID-19 is necessary, since the genetic factors that contribute to the susceptibility and severity of this disease may provide new biological insights into the pathogenesis of the disease. In addition, to identify targets for therapeutic development or drug repurposing, as treatment of the disease remains a highly important goal, despite the development and success of vaccines. Thus, the main purpose of the research was to establish a relationship between obesity, MC4R, NRXN3 and LYPLAL1 genes, with the clinical outcome of COVID-19.

Methods

Characterization of the study, the sample, and ethical aspects

A case-control, cross-sectional study with retrospective monitoring direction and convenience sampling mechanism was carried out with patients diagnosed with COVID-19, from which blood samples from the Clinical Analysis Laboratory were used, in addition to data present in the HEM medical records.

Sample collection (peripheral whole blood) and clinical data collection were performed over a 14-month period.

Clinical management groups

Patients were classified into three groups (Table 1) in accordance with the COVID-19 clinical management document defined by the World Health Organization (WHO) for the

classification of disease severity.²¹ Severity of illness according to the clinical management groups was divided into: severe illness by COVID-19, which includes clinical signs of pneumonia plus respiratory rate with the number of breaths per minute greater than 30 or severe respiratory distress or oxygen saturation (SpO₂) on room air less than 90%; and critical illness which is characterized by the presence of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), sepsis and septic shock.²¹

Table 1- Classification of groups according to WHO 2020 COVID-19 clinical management

| GROUP | DESCRIPTION |
|---------|---|
| Group 1 | Patients with severe disease* by COVID-19, hospital discharge \leq 72 hours |
| Group 2 | Patients with severe disease by COVID-19, hospital discharge > 72 hours |
| Group 3 | Patients with critical illness**, admitted to the ICU and/or who have died. |

ICU: Intensive Care Unit

* Clinical signs of pneumonia (fever, cough, dyspnea, rapid breathing) plus one of the following: respiratory rate >30 breaths/min; severe respiratory distress; or SpO₂ <90% on room air.

** Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), sepsis, and septic shock.

Adapted from WHO, 2020.²¹

Ethical aspects

The participation was effected by signing the Informed Consent Form (ICF), explaining the purposes and operation of the project. The terms of Resolution 196, from October 10, 1996, of the National Health Council were followed. The project was approved by the UFMG

Human Research Ethics Committee, registered under CAAE number 31095820.4.0000.5149.

This agreement was established after signing the ICF, which contained information about the study (identification, objective, methodology), its risks and benefits, and their rights as volunteers and guardians.

Due to the pandemic context, the ICF was applied via telephone call and/or communication application with subsequent audio recording with authorization to participate in the research; the audios were duly saved and stored.

Delineation

To extract DNA from the patients, 4 mL of peripheral whole blood were collected in EDTA tubes and stored at room temperature (25°C) until processed. The aliquot was taken from the same blood collected for the CBC, a procedure already performed by the hospital, so as not to submit the patient to a new puncture.

The blood samples were submitted to virus inactivation by HEM technicians, following the following protocol: from an isotonic solution (1x phosphate-buffered saline - PBS), 20 mL of 2% Triton and a solution volume of 190g isothiocyanate and 190g guanidine thiocyanate were added (solubilization: water bath at 56°C).

After inactivation, the technicians stored the samples in a freezer (temperature: -80°C) of the Clinical Analysis Laboratory of the HEM for later removal, transport and other procedures performed by the researcher in charge.

The samples were transported according to the norms of the National Health Surveillance Agency (Anvisa), in accordance with current regulations, to the Laboratory of Integrative Biology of the Institute of Biological Sciences (ICB) of UFMG, Pampulha Campus, where the extraction of DNA from the samples was performed.

A total of 271 peripheral blood samples were collected. Of these, only 122 samples were previously selected, since there was no record of medical records of all patients available. Thus, 122 samples were used for DNA extraction and subsequent quantification. As the concentration of DNA obtained in some extractions was not sufficient for the experiments ($[DNA] < 30\text{ng}/\mu\text{L}$), some samples could not be used. Therefore, we were able to obtain a sample number of 108 patients.

DNA Extraction and SNP Genotyping

DNA extraction from leukocytes using the Genomic DNA from blood NucleoSpin® kit from Macherey-Nagel was performed according to the manufacturer's protocol. After extraction, the samples were transported and stored in a specific refrigerator for DNA samples (temperature: 4°C) of the Laboratory of Molecular Medicine of the UFMG Medical Campus, under the responsibility of the research coordinator for further genetic analysis. The genetic polymorphisms were analyzed using the Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR) technique.

Of the Genes

Three single nucleotide polymorphisms (SNPs) of three obesity-related genes were selected; MC4R (SNP *rs17782313*), NRXN3 (SNP *rs10146997*) and LYPLAL1 (SNP *rs4846567*). All genes studied were selected according to the literature of interest.^{11,15-20} The probes were acquired from the Thermo Fisher Applied biosystems and kept at a temperature of 4°C, where they are cataloged and stored in a specific freezer.

Genotyping

TaqMan SNP genotyping assays were used according to the manufacturer's instructions (Applied Biosystems, Foster City, CA) using the ABI 7500 Fast Real-Time PCR system and genotypes analyzed using Sequence Detection Software 1.3.

Genotyping quality control procedures included duplicates (10%), to check for accuracy, and inclusion of positive controls in each 96-well plate. As a means of quality control of the results obtained, the procedure was repeated on 10% of the sample, selected at random. No genotyping errors were found.

Statistical analyses

Data were expressed as median [interquartile range (IQR)] or percentages, as appropriate.

All statistical analyses were conducted in the program R, version 4.0.3. Categorical variables were described by absolute and relative frequency while numerical data were described as median and interquartile range. Associations between categorical variables were explored by the chi-square test or Fisher's exact test. Differences in medians between groups were tested by the Wilcoxon-Mann-Whitney or Kruskal-Wallis test. Logistic regression models were used to ascertain the genotype and allelic frequency of SNPs of the genes studied, odds ratio (OR) and 95% confidence interval. Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was assessed with the chi-square test or likelihood ratio test with the `HWAlltests` function of the `HardyWeinberg` package. Percentile (p) values <0.05 were considered significant.

Results

Sample characterization

The survey, recruited 108 participants, of which 56% (n=60) were biological sex male and 44% were biological sex female (n=48).

The median length of stay in the hospital was 20 days (0.5 - 223) and the median age was 60 years (21 - 86), comprising 52% (n=56) of seniors in the survey. The sample was represented by a median weight value of 90kg ($p < 0.05$).

Regarding the classification of the phenotypic characteristic of skin color; 74% self-reported as brown (n=76), 17% as white (n=18), 5.8% as black (n=6), 2.9% as yellow (n=3), 0.3% as uninformed (n=5).

Most subjects (93%, n=100) had some comorbidity, of these, 62% had more than one comorbidity (n=67). Of the comorbidities reported were characterized; overweight (67%; n=72), hypertension (56%; n=60), diabetes (35%; n=38), neurological diseases (19%; n= 21), hypothyroidism (11%; n=12), drug addiction (8. 3%; n=9), dyslipidemia (7.4%; n=8), human immunodeficiency virus (6.5%; n=7), asthma (3.7%; n=4), and cancer (2.8%; n=3).

The group characterized as overweight included; 75% (n=54) obese and 25% classified as overweight (n=18).

The largest portion of participants carrying CC+TC genotypes of the MC4R gene were allocated to GMC 3 (66%).

It was also seen that the largest portion (60%) of participants who had GG+AG genotypes of the NRXN3 gene were in GMC 3.

Patients presenting TT+GT genotypes of the LYPLAL1 gene were allocated to GMC3 with the largest portion (64%). Regarding genotypes and GMC3 no association was found ($p > 0.05$).

Table 2. Genetic variants and the clinical outcome of COVID-19

| SNPs | GMC 1 and 2 (39, 36%) | | GMC 3 (69, 64%) | p-value |
|---------------------|-----------------------|--|-----------------|---------|
| | Frequency (n,%) | | Frequency (n,%) | |
| rs17782313 (MC4R) | | | | 0.729 |
| TT | 22 (37%) | | 38 (63 %) | |
| CC + TC | 16 (34%) | | 31 (66%) | |
| rs10146997 (NRXN3) | | | | 0.673 |
| AA | 29 (35%) | | 53 (65%) | |
| GG + AG | 10 (40%) | | 15 (60%) | |
| rs4846567 (LYPLAL1) | | | | 0.852 |
| GG | 24 (38%) | | 40 (62%) | |
| TT+ GT | 15 (36%) | | 27 (64%) | |

Values are expressed as absolute and relative frequency.

GMC: Clinical Management Group; A: Adenine; C: Cytosine ; G: Guanine; T: Thymine.

Of the volunteers characterized as overweight (BMI > 24.9kg/m²), 50% (n=54) were obese (BMI ≥ 30kg/m²) and 17% (n=18) were overweight (BMI between 25-29.9kg/m²) (Table 3). The mean length of stay of obese patients, considering from admission to discharge/death, was 22 days, and this value was longer than that of non-obese patients (data not shown), p<0.05.

The presence of two or more comorbidities was observed in 74% of obese patients and in 50% of non-obese patients (p<0.05). It was also possible to notice that obese patients who had another comorbidity had a higher ICU hospitalization (76%, n = 41) when compared to

non-obese patients ($p < 0.05$) (Table 3). Regarding the clinical management group, obese patients showed more severe disease presentation, and 78% ($n = 42$) were characterized in the GMC 3 group, showing a significant difference when compared to non-obese patients (50%) ($p < 0.05$) (Table 3).

The participants classified as overweight, also characterized in Table 3, were more representative in the GMC2 group, 72% ($n = 13$). These and others characteristics of the obese and overweight volunteers are described in Table 3.

Table 3. Characteristics of the obese and overweight participants in the survey

| | Obesity (54, 50%) | | Overweight (18, 17%) | | p-value |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|-----------------------|----------------------|---------|
| | Non-obese Frequency (n,%) | p-val ue | Non-overweig ht | Frequency (n,%) | |
| Days hospitalized | | | | | |
| < 10 days/ > 10 days | 17 (31%)/ 37 (69%) | 0.188 | 22 (24%)/ 68 (76%) | 6 (33%)/ 12 (67%) | 0.556 |
| Sex | | | | | |
| Female/ Male | 23 (43%)/ 31 (57%) | 0.699 | 42 (47%)/ 48 (53%) | 6 (33%)/12 (67%) | 0.299 |
| Ethnicity | | | | | |
| White | 8 (16%) | 0.789 | 15 (18%) | 3 (17%) | |
| Yellow | 1 (2,0%) | | 3 (3.5%) | 0 (0%) | |
| Brown | 37 (74%) | | 64 (75%) | 12 (67%) | |

| | | | | | |
|---------------------|----------|-----------|----------|-----------|--------|
| Black | 4 (8,0%) | 2 (3,8%) | 3 (3,5%) | 3 (17%) | 0.215 |
| Age | | 0.649 | | | |
| 20-40 years old | 3 (5,6%) | 6 (11%) | 9 (10%) | 0 (0%) | |
| 40-60 years old | 22 (41%) | 21 (39%) | 33 (37%) | 10 (56%) | |
| > 60 years old | 29 (54%) | 27 (50%) | 48 (53%) | 8 (44%) | |
| GMC3 | 27 (50%) | 42 (78%) | 64 (71%) | 5 (28%) | <0.001 |
| ICU | 22 (41%) | 41 (76%) | 58 (64%) | 5 (28%) | 0.004 |
| ICU+ Comorbidity | 56 (52%) | 41 (76%) | 51 (57%) | 5 (28%) | 0.025 |
| Comorbidity | 46 (85%) | 54 (100%) | 82 (91%) | 18 (100%) | 0.347 |
| ≥2 Comorbidity | 27 (50%) | 40 (74%) | 56 (62%) | 11 (61%) | 0.459 |
| without comorbidity | 8 (15%) | 0 (0%) | 8 (8,9%) | 0 (0%) | 0.459 |
| 1 Comorbidity | 19 (35%) | 14 (26%) | 26 (29%) | 7 (39%) | 0.459 |
| MV | 8 (15%) | 12 (22%) | 19 (21%) | 1 (5,6%) | 0.185 |
| Death | 17 (31%) | 24 (44%) | 39 (43%) | 2 (11%) | 0.010 |

Values are expressed as absolute and relative frequency.

GMC: Clinical Management Group; ICU: Intensive Care Unit; MV: Mechanical Ventilation.

Disease severity among patients in the study sample (n=108) was assessed considering the clinical management groups (GMC 1, 2 and 3), characterizing; 64% (n = 69) in group 3, 35% (n = 38) in group 2, and 0.9% (n=1) in group 1 (data not shown).

The mean length of hospital stay for GMC3 was 21 days, with the largest portion (61%, n = 42) of this group spending more than 20 days hospitalized (Table 4).

Regarding the severity of clinical pictures, 64% of the study population was in clinical management group 3 ($p<0.05$). Of the individuals with BMI classifications above the maximum ideal (24.9 kg/m²) that showed more severe pictures of the disease, 96% (n = 46) were admitted to ICU with 27% (n = 13) using MV, being characterized in the GMC3 group, showing a significant difference in these variables when compared to patients allocated to the less critical groups (1 and 2) ($p<0.05$) (Table 4).

Patients with some comorbidity who were admitted to the ICU (81%; n= 56) and who used mechanical ventilation (25%; n= 17) developed more unfavorable clinical outcomes, being classified in GMC3 ($p<0.05$) (Table 4).

More characteristics of the clinical management groups can be seen in Table 4.

Table 4. Characteristics of clinical management group 3 (GMC3)

| | GMC 1 and 2 (39, 36%) | | GMC3 (69, 64%) | |
|------------------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|---------|
| | Frequency (n,%) | Frequency (n,%) | Frequency (n,%) | p-value |
| Days hospitalized | | | | 0.046 |
| > 20 days | 14 (36%) | 42 (61%) | | |
| ICU | 0 (0%) | 63 (91%) | | <0.001 |
| ICU+ Comorbidity | 0 (0%) | 56 (81%) | | <0.001 |
| MV | 0 (0%) | 20 (29%) | | <0.001 |
| MV+ Comorbidity | 0 (0%) | 17 (25%) | | <0.001 |
| BMI | | | | <0.001 |
| Malnutrition | 1 (2,6%) | 1 (1.4%) | | |
| Eutrophic | 13 (33%) | 21 (30%) | | |
| Overweight | 11 (28%) | 5 (7.2%) | | |
| Obesity | 14 (36%) | 42 (61%) | | |
| Overweight and Obesity | 25 (64%) | 47 (68%) | | 0.671 |
| Overweight and Obesity + ICU | 0 (0%) | 46 (96%) | | <0.001 |
| Overweight and Obesity + MV | 0 (0%) | 13 (27%) | | 0.003 |
| Obesity | 38 (97%) | 42 (61%) | | 0.003 |
| Overweight | 12 (31%) | 5 (7.2%) | | <0.001 |
| Comorbidity | 24 (62%) | 62 (90%) | | 0.254 |
| Death | 0 (0%) | 41 (59%) | | <0.001 |

Values are expressed as absolute and relative frequency.

GMC: Clinical Management Group; ICU: Intensive Care Unit; BMI: Body Mass Index; MV:

Mechanical ventilation.;

The median age at death was 65 years. It was observed that the obese biological sex male population accounted for 67% of the deaths, and this same percentage characterized obese brown males as the majority of those who died.

Death was more prevalent in patients who were in the ICU (85%, n = 35) and in those who used MV (34%, n = 14), with a significant difference when compared to patients who were not in ICU (42%) or who were not using MV (9%) ($p < 0.05$) (Table 5). The median length of stay of the patients who died was 20 days (9 - 36) (data not shown).

The evolution of death for volunteers classified with BMI above the maximum ideal (24.9 kg/m²) was significant compared to individuals with BMI below 24.9 kg/m² ($p < 0.05$), with median weight equal to 95kg ($p < 0.05$), 59% (n = 24) being obese and 4.9% (n = 2) overweight ($p < 0.05$). All obese patients who were allocated to GMC3 died (100%, n = 24; $p < 0.05$). The outcome of death was also observed in relation to overweight, in which deaths were more prevalent in relation to the worst clinical outcomes of these patients with weight above the maximum ideal (GMC3: 100%, n = 26 and ICU: 93%, n = 25), $p < 0.05$ (Table 5).

Although not significant, it is worth noting the high percentage of brown people who died from COVID-19 in our study, since a large portion of the study population reported themselves as brown. Besides these, more variables characterize the population that died and are described in Table 5.

Table 5. Characteristics of the group that died

| | Non-death (70, 62%) | | Death (41, 38%) | |
|-------------------------------|---------------------|--------------------|-----------------|---------|
| | Frequency (n,%) | Frequency (n,%) | Frequency (n,%) | p-value |
| Sex | | | | |
| Female/ Male | 34 (51%)/33 (49%) | 14 (34%)/ 27 (66%) | | 0.092 |
| Ethnicity | | | | |
| White | 6 (9,5%) | 12 (30%) | | 0.017 |
| Yellow | 1 (1,6%) | 2 (5.0%) | | |
| Brown | 51 (81%) | 25 (62%) | | |
| Black | 5 (7,9%) | 1 (2.5%) | | |
| BMI | | | | |
| Malnutrition | 1 (1,5%) | 1 (2.4%) | | 0.025 |
| Eutrophic | 20 (30%) | 14 (34%) | | |
| Overweight | 17 (25%) | 2 (4.9%) | | |
| Obesity | 29 (43%) | 24 (59%) | | |
| Overweight and Obesity + GMC3 | 21 (46%) | 26 (100%) | | <0.001 |
| Overweight and Obesity + ICU | 21 (46%) | 25 (93%) | | <0.001 |
| GMC | 28 (42%) | 41 (100%) | | <0.001 |
| MV | 6 (9,0%) | 14 (34%) | | <0.001 |
| MV + comorbidity | 6 (9,0%) | 11 (27%) | | 0.013 |
| ICU | 28 (42%) | 35 (85%) | | <0.001 |
| ICU + comorbidity | 26 (39%) | 30 (73%) | | <0.001 |

Values are expressed as absolute and relative frequency.

ICU: Intensive Care Unit; BMI: Body Mass Index; MV: Mechanical ventilation.

Two SNPs, MC4R and LYPLAL1 showed Hardy-Weinberg equilibrium (p-value 0.07 and 0.46 for rs17782313 and rs4846567, respectively). The SNP corresponding to the NRXN3 gene did not show equilibrium (p-value <0.05).

Discussion

The literature describes several genetic variants related to diseases, the same addresses the association of genetic biomarkers related to obesity with COVID-19.²³ Despite the existence of data that collaborate with the encouragement of genetic studies with COVID-19,^{24,25} the scarcity of replication studies is a challenge to understand genetic association factors related to obesity with COVID-19. Understanding the relevance of this topic, especially because it is an emerging disease with high mortality rates,³ and since the literature still lacks studies on the association of polymorphisms of genes MC4R, NRXN3 and LYPLAL1 with the disease caused by the SARS-CoV-2 virus, our study contributes to the sum of data that can determine the subjects more likely to acquire the disease and or factors that determine worse outcomes in those who are carriers of allelic variants of these genes.

Allelic variants showed no association with worse clinical outcome in COVID-19, although patients carrying the allelic variants CC+TC (MC4R), GG+AG (NRXN3) and TT+GT (LYPLAL1) had a median length of hospital stay of 20 days. Longer hospital stays are findings consistent with the worst outcomes of a disease, and may indicate the need for a greater scientific approach about these and other genes and their associations with COVID-19, as already highlighted in the literature about the genetic relation inferring in worse outcomes of COVID-19, indicating that molecular medicine can contribute in identifying subjects more

susceptible to acquire the disease, or even the indication of low risk of some individuals, generating amplitude of knowledge of the biology of infection and disease by the SARS-CoV-2 virus at the global level.^{24,25}

The production of studies with genetic data, although not significant, generate new insights for the study of other genes that may be related to COVID-19, since the identification of genes that determine susceptibility to COVID-19, or its worst outcome, may provide information about the pathophysiological mechanisms underlying the disease, and may include new approaches to treatment and prevention. Since these data are not statistically significant, further, large-scale studies with larger sample N are needed for a more assertive discussion.

In the present study, patients carrying the SNP of MC4R, rs17782313, did not show statistically significant results regarding worsening of clinical outcomes of COVID-19, despite its association with obesity.¹¹ Considering then its strict relationship as an obesity biomarker, and further considering the results found in the present study of the association of obesity with worse outcome in COVID-19, it is valid to ascertain the need for further studies that conduct a more refined investigation, with a larger population size, of the relationship between subjects carrying SNPs of the MC4R gene and clinical outcomes of COVID-19.

Patients carrying the SNP rs10146997 (NRXN3) also showed statistically non-significant results regarding the worst clinical outcome of COVID-19. There is a need for further studies, with a larger population, to better delineate the relationship of this gene with diseases such as COVID-19, since the literature shows functions that the NRXN3 gene could play in conjunction with its relationship with obesity described in other studies.¹⁵⁻¹⁷ Moreover, there is a need for further studies related to the NRXN3 gene given its extensive possibility of

synapse development, already known in the literature,¹⁵⁻¹⁷ which if impaired can affect the body's functions, including the immune system, enabling it to be vulnerable.

Carriers of the SNP rs4846567 (LYPLAL1) did not indicate an association with worsening clinical outcomes in COVID-19. But it is still worth noting the role of this gene in the body, and its link to overweight, even if its signaling pathways are not yet sufficiently elucidated.¹⁸⁻²⁰

Thus, it would be interesting to assume that a genotype alteration in the LYPLAL1 gene could lead to a decrease in CD4 lymphocytes, given its ability to depalmitoylate, leading to an exposure of the immune system, which, in turn, would set the stage for possible infections and complications.¹⁸⁻²⁰ That said, it is important to consider further research, with a larger population, to elucidate the relationship of LYPLAL1 genetic variants to the clinical findings of worse outcomes of COVID-19, as well as other viral and infectious diseases.

Regarding the genes studied for genotype frequency in the groups analyzed, in the case of the SNP of the NRXN3 gene, the population was not in agreement with Hardy-Weinberg equilibrium. Although the chi-square test used in this study to validate the data observed in the EHW is well regarded for use in this test, the deviation that occurred can be explained mainly due to the size of the sample evaluated.²⁶ The other genes, MC4R and LYPLAL1, presented EHW. This indicates good parameters of genetic balance in the study, with allelic and genotypic proportions expected in the population studied.²⁶

Given the above, attention needs to be paid to the complex interactions between genetic and environmental factors that may mask the effects of genetic variants, and further studies with larger numbers of patients are assertive to examine whether other common variants in MC4R, NRXN3, and LYPLAL1 genes contribute to the risk of acquiring COVID-19 and its

complicators.

It is also emphasized that our research aimed to evaluate, in addition to obesity, polymorphisms in the MC4R, NRXN3, and LYPLAL1 genes in relation to the risk of worse outcomes for COVID-19, since the literature does not yet have model works of this type. Thus, this was possibly the first study to investigate the likely relationships between SNPs of the cited genes to COVID-19.

Regarding obesity, we studied its association with the clinical outcomes of patients diagnosed with COVID-19, since obesity is a chronic disease that precedes and complicates the quality of life of the population, being associated with mortality worldwide.⁷ In line with this are our findings in this research, which bring the association of BMI above the maximum ideal to the outcome of death by COVID-19, in addition to its relationship to longer hospital stay, ICU allocation and more critical clinical management groups, resulting in worse outcomes to individuals with overweight.

Cai et al.²⁷ (2020) report in their research this progression to the most critical state of COVID-19, considering the worsening of clinical status in obese people due to the pathophysiological conditions of obesity, characterized by inflammatory response, with activation of the renin angiotensin system as well as by tissue injury, hypoxia and insulin resistance.¹⁴ A longer hospital stay seen in obese patients in this study is another indication that excess weight can transpose quality of life, increasing the length of hospital stay and consequently the patient's clinical status, since hospital exposure occurs to several aggravating factors, as well as impairment of mechanical activity and functionality of systems and organs, given the severity of the disease.¹⁴

Most of the population studied had some comorbidity, among which overweight was present

in most cases. These clinical data are in agreement with the findings of Huang et al.²⁸ (2020), Piroth et al.²⁹, Stefan et al.³⁰, and Wang et al.³¹ (2021). Which demonstrates that overweight people have complicators that provide deleterious states that result in susceptibility to COVID-19, given impaired metabolic health, such as subclinical inflammation and organ dysfunctions present in obese individuals.^{29-31,14}

Being overweight configured more than half of the population into the most critical clinical management group, and both obesity and overweight were considered risk factors for entry into the most critical clinical management groups (2 or 3)($p < 0.05$). Research by Nakeshbandi et al.³² (2020) and Stefan et al.³⁰ (2021) demonstrated this impact of obesity on COVID-19, revealing that patients diagnosed with COVID-19 who are overweight or obese have a higher risk of mortality, with a greater tendency to use mechanical ventilation compared to subjects with BMI within the normal range, as well as indicating that especially visceral obesity is a strong complicator of the disease.

These findings are relevant for predicting that a population that is above the healthy body mass index (between 18.5 and 24.9 kg/m²) may have a tendency, more explicitly, of severe cases of COVID-19. This reading of results corresponds to the clinical findings of authors who have correlated BMI and COVID-19.^{23,24} Authors have reported this trend of more severe cases in patients with BMI above the maximum ideal, correlating the unfavorable factors of the obese state with COVID-19, such as inflammation and oxidative stress added to the immune, endothelial, and cardiovascular dysfunctions that corroborate the metainflammation characteristic of SARS-CoV-2 infection in obese patients.^{23,24,30}

It was also noticed that overweight people admitted to ICU using mechanical ventilation comprised a more expressive number in GMC3 compared to patients with BMI <

24.9kg/m²(p<0.05). BMI proved to be an indicator of worse prognosis regarding entry into GMC3 (p<0.05). These findings corroborate with the studies by Nakeshbandi et al.³² (2020) and Stefan et al.³⁰ (2021), among other authors who indicate that high BMI collaborates with more severe states of a disease due to its detrimental metabolic effects on health, such as ectopic fat deposition, insulin resistance, and immune dysfunction.

The survey data indicate that the largest portion of deaths were from the group of patients with BMI above the maximum ideal. This finding corroborates findings by other authors³⁷ and is in agreement with WHO reports indicating higher mortality in cases of individuals with high BMI.⁷ Overweight patients who were admitted to the ICU and evolved to death characterized by almost 100% of the study population (p<0.05). These findings corroborate the studies of other authors, considering all the complicators of inflammation characteristic of overweight individuals and their relations with SARS-CoV-2 infection.^{30,31,32} Mortality of groups with BMI above the ideal is well reported in the literature, and the relation with COVID is also well disseminated, with data on a large territorial scale, in view of countries with a preponderance of overweight.³⁰ The metabolic and mechanical complications of high BMI condition the individual to worsen clinical outcomes, with longer hospital stays and mortality, since the intra-abdominal pressure that leads to other diseases that debilitate the health status as well as the organic dysfunctions resulting from fat inflammation, with dysfunction of tissues and organs, which depreciate the immune and cardiovascular systems.^{30-33,11}

Some factors, such as age, gender, and ethnicity, were described to better characterize the studied sample in order to discuss whether these variables can make the health condition more aggravating. The majority of the study population was elderly, which influences the

categorization of the age range of the obese population in the study. Pioneering studies, by Perrotta et al.³⁴ (2020), on the population most affected with COVID-19 already pointed the elderly as a risk group, mainly due to the characteristic immunosenescence of these subjects, which was also reported in reviews by Chen et al.³⁵ and Stefan et al.³⁰ (2021). The median age (60 years) found of the obese volunteers who were diagnosed with COVID-19, although not significant, adds up as an aggravating factor for a worse disease outcome, as indicated by Stefan et al.³⁰ (2021).

Regarding gender, the share of the male population, although discrete and not significant, was higher compared to the percentage frequencies of females. Studies by Palaiodimos et al.³⁷ (2020) also indicated the relationship of obesity, males, and hospitalization for COVID-19, the authors correlated male gender with worse clinical outcomes. Research by Stefan et al.³⁰ (2021) indicated male gender as a comorbid factor for COVID-19.

The mean length of stay for GMC3 was greater than 20 days for most of the sample ($p < 0.05$), which was expected, but with a small difference in the male biological sex, without statistical significance. Research by Stefan et al.³⁰ (2021) indicated this trend of worse outcomes for males, as mentioned earlier.

Also, it was noticed that of the deaths the skin color described as brown was the most noted (non-significant data). This finding may indicate a tendency of this phenotypic characteristic to be more related to the worst outcomes in relation to COVID-19, such as death. Some authors have already highlighted in their studies that ethnicity may be associated with the worst clinical outcomes of COVID-19.³⁷ However, it is important to emphasize that since the research was conducted in Latin America, in a country considered mixed race, in which this is a characteristic of the general population, it may not be a complicating factor of the disease,

as is seen, for example, in cases of hypertension for people of African descent, as cited in a study by in a review by Ogunniyi et al.³⁸ (2021).

It can also be highlighted the fact that the referring hospital is 100% SUS, since, in addition to the population studied being from an underdeveloped country, from which data were subtracted from a public hospital, assisted by SUS, which is governed by a system that integrates equity as one of its principles, in order to serve subjects that belong to a group of low purchasing power, compiling, in its majority, low education, and that consequently occurs limitation of access to nutritionally adequate food. Blüher et al.³⁹ (2019) indicate the association of these factors with obesity, linking it to the environmental and social context, in addition to describing psychosocial stress as a mediator of this relationship between socioeconomic vulnerability and increased risk of obesity.

Blüher et al.³⁹ (2019) report that the prevalence of obesity is high in more socially deprived or less educated individuals, as an example the authors cite Brazil and other developing countries, in which the prevalence of obesity in lower socioeconomic status groups parallels a country's weakened economy.

Patients carrying the TT genotypes of the SNP of the MC4R gene showed a statistically significant association with obesity and the brown phenotypic characteristic. Although significant and with results consistent with some authors,⁴⁰ caution is necessary given the characteristics of the economic and territorial analysis of the country, as mentioned above.

Of the parameters analyzed, especially in relation to genetic variants, a limitation may have occurred due to sample size. The sample size could have been larger, as this is an emerging disease with exponential growth. However, the limitations and restrictions related to the pandemic imposed a smaller sample collection and extraction range.

The medical records had incomplete information, making it difficult to tabulate clinical data and, sometimes, its scarcity; limiting the use of more clinical data.

Regarding the parameters used for anthropometric measurement, it would be interesting to consider the use of waist circumference to better describe the visceral obesity of patients. However, the limitations due to COVID-19 did not allow this and other measurements by professionals, and the estimated weight was mostly used since the patients were isolated and restricted to the hospital clinical staff of physicians, physical therapists, and nurses.

Even so, the present study could corroborate the data from the scientific community that approach the interlocation of obesity and COVID-19. Since, it is a considerably promising study, focusing on the connection of the metabolic events of both diseases and searching for characteristics that address a common denominator. It is possible to address probable pathways of the interrelationship between obesity and COVID-19, as well as the possibility of adding to the study the association with genetic biomarkers that have not yet been described in the literature.

Other studies have been performed with genes related to obesity, such as the FTO gene (fat mass and obesity associated), showing association with COVID-19.²³ In view of this, it is worth considering this and new studies that may prove genetic associations with disease outcomes, in order to obtain more contributions to science and consequently quality of life to the world population.

Thus, the research has innovative potential and collaborates with future researches that address the theme and the genes studied. Being one of the pioneers to raise the hypothesis of the relationship of genes MC4R, NRXN3 and LYPLAL1 to the worst clinical outcomes of COVID-19.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

We are grateful for all subjects who participated in the study, and also grateful to the CAPES, Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel.

Author Contributions

Study concept and design: LMB and LBR; conceptualization and investigation: LMB; methodology: LMB; acquisition and curation of data: LMB; analysis and interpretation of data: LMB; original draft preparation: LMB; drafting of the manuscript: LMB; critical revision of the manuscript: LBR; software and statistical analysis: RPS; editing: LMB; and study supervision: LBR.

References

1. World Health Organization (WHO). Background on the pandemic of COVID-19. Fact sheet on COVID-19; PAHO, 2020. Available at: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>
2. World Health Organization (WHO). Clinical management of COVID-19: interim guidance, 27 May 2020. World Health Organization. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332196>. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
3. World Health Organization (WHO). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, 2022. Available at: <https://covid19.who.int/>
4. World Health Organization (WHO). Health Emergency Dashboard. WHO Coronavirus (COVID-19), 2022. Available at: <https://covid19.who.int/region/amro/country/br>
5. Ministry of Health (BR). Panel of cases of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Brazil by the Ministry of Health. 2022. Available at: <https://covid.saude.gov.br/>.
6. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, 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. *Lancet*. 2014 Aug 30;384(9945):766-81. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60460-8. Epub 2014 May 29. Erratum in: *Lancet*. 2014 Aug 30;384(9945):746. PMID: 24880830; PMCID: PMC4624264.
7. World Health Organization (WHO). Obesity And Overweight. Fact sheet N°311, 9 June 2021. Available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>)

8. Jaacks LM, Vandevijvere S, Pan A, McGowan CJ, Wallace C, Imamura F, Mozaffarian D, Swinburn B, Ezzati M. The obesity transition: stages of the global epidemic. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2019 Mar; 7(3): 231-240. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30026-9. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30704950; PMCID: PMC7360432.
9. IBGE. National health survey: 2019: primary health care and anthropometric information: Brazil / IBGE, Coordination of Work and Income. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020.
10. Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin-angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *J Nutr Biochem.* 2013; 24(12): 2003-15.
11. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med.* 2017 Jan 19; 376(3): 254-266. doi: 10.1056/NEJMra1514009. PMID: 28099824.
12. Furman D, Campisi J, Verdin E, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med.* 2019; 25, 1822–1832. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
13. Khatua B, El-Kurdi B, Patel K, Rood C, Noel P, Crowell M, et al. Adipose saturation reduces lipotoxic systemic inflammation and explains the obesity paradox. *Science Advances.* 2021; 7(5). Doi:10.1126/sciadv.abd6449
14. Zhou Y, Chi J, Lv W, Wang Y. Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). *Diabetes Metab Res Rev.* 2021 Feb; 37(2): e3377. doi: 10.1002/dmrr.3377. Epub 2020 Jul 20. PMID: 32588943; PMCID: PMC7361201.

15. Heard-Costa NL, Zillikens MC, Monda KL, Johansson Å, Harris TB, Fu M, et al. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. *PLoS Genet.* 2009 Jun; 5(6): e1000539. doi: 10.1371/journal.pgen.1000539. Epub 2009 Jun 26. PMID: 19557197; PMCID: PMC2695005.
16. Gomez AM, Traunmüller L, Scheiffele P. Neurexins: molecular codes for shaping neuronal synapses. *Nat Rev Neurosci.* 2021 Mar; 22(3): 137-151. doi: 10.1038/s41583-020-00415-7. Epub 2021 Jan 8. PMID: 33420412
17. Ibáñez-Zamacona ME, Poveda A, Rebato E. Contribution of obesity associated genetic variants to anthropometric somatotype components. *Anthropol Anz.* 2019; 76(2): 101-111. doi:10.1127/anthranz/2019/0945
18. Kok BP, Ghimire S, Kim W, Chatterjee S, Johns T, Kitamura S, Eberhardt J, Ogasawara D, Xu J, Sukiasyan A, et al. Discovery of small-molecule enzyme activators by activity-based protein profiling. *Nat Chem Biol.* 2020 Sep;16(9): 997-1005. doi: 10.1038/s41589-020-0555-4. Epub 2020 Jun 8. PMID: 32514184; PMCID: PMC7442688.
19. Tamura T, Morita E, Kawai S, Sasakabe T, Fukuda N, Sugimoto Y, et al. Significant Associations of Abdominal Obesity with LYPLAL1 Polymorphism (rs4846567) among a General Japanese Population: A Cross-Sectional Study. *International Journal of Epidemiology*, 2015; 44(suppl_1): i243–i244. doi:10.1093/ije/dyv096.441
20. Tian L, McClafferty H, Knaus HG, Ruth P, Shipston MJ. Distinct acyl protein transferases and thioesterases control surface expression of calcium-activated potassium channels. *J Biol Chem.* 2012; 287(18): 14718-14725.

doi:10.1074/jbc.M111.335547

21. WHO. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: interim guidance, 2020. WHO reference number: WHO/2019-nCoV/clinical/2020.5
22. Lahiri DK, Nurnberger Jr JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991;19:5444.
23. Zhang X, Hao H, Ma L, et al. Methyltransferase-like 3 Modulates Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 RNA N6-Methyladenosine Modification and Replication. *mBio*. 2021;12(4):e0106721. doi:10.1128/mBio.01067-21
24. COVID-19 Host Genetics Initiative. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. *Eur J Hum Genet*. 2020 Jun;28(6):715-718. doi: 10.1038/s41431-020-0636-6. Epub 2020 May 13. PMID: 32404885; PMCID: PMC7220587.
25. COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature* 600, 472–477 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03767-x>
26. Abramovs N, Brass A, Tassabehji M. Hardy-Weinberg Equilibrium in the Large Scale Genomic Sequencing Era. *Front Genet*. 2020 Mar 13;11:210. doi: 10.3389/fgene.2020.00210. PMID: 32231685; PMCID: PMC7083100.
27. Cai Q, Chen F, Wang T, Luo F, Liu X, Wu Q, He Q, Wang Z, Liu Y, Liu L, Chen J, Xu L. Obesity and COVID-19 Severity in a Designated Hospital in Shenzhen, China. *Diabetes Care*. 2020 Jul; 43(7): 1392-1398. doi: 10.2337/dc20-0576. Epub 2020 May 14. PMID: 32409502.
28. Huang Y, Lu Y, Huang YM, Wang M, Ling W, Sui Y, Zhao HL. Obesity in patients

- with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2020 Dec; 113: 154378. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154378. Epub 2020 Sep 28. PMID: 33002478; PMCID: PMC7521361.
29. Piroth L, Cottenet J, Mariet AS, Bonniaud P, Blot M, Tubert-Bitter P, Quantin C. Comparison of the characteristics, morbidity, and mortality of COVID-19 and seasonal influenza: a nationwide, population-based retrospective cohort study. *Lancet Respir Med*. 2021 Mar; 9(3): 251-259. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30527-0. Epub 2020 Dec 17. PMID: 33341155; PMCID: PMC7832247.
30. Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB, Ludwig DS. Obesity and impaired metabolic health in patients with COVID-19. *Nat Rev Endocrinol*. 2020 Jul; 16(7): 341-342. doi: 10.1038/s41574-020-0364-6. PMID: 32327737; PMCID: PMC7187148.
31. Wang Y, Xu J, Wang Y, Hou H, Feng H, Yang H. An updated meta-analysis on the relationship between obesity and COVID-19 mortality. *Metabolism*. 2021 Sep; 122: 154820. doi: 10.1016/j.metabol.2021.154820. Epub 2021 Jun 29. PMID: 34171346; PMCID: PMC8239205.
32. Nakeshbandi M, Maini R, Daniel P, Rosengarten S, Parmar P, Wilson C, Kim JM, Oommen A, Mecklenburg M, Salvani J, Joseph MA, Breitman I. The impact of obesity on COVID-19 complications: a retrospective cohort study. *Int J Obes (Lond)*. 2020 Sep; 44(9): 1832-1837. doi: 10.1038/s41366-020-0648-x. Epub 2020 Jul 25. PMID: 32712623; PMCID: PMC7382318.
33. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*. 2017 Jan 19; 376(3): 254-266. doi: 10.1056/NEJMra1514009. PMID: 28099824.

34. Perrotta F, Corbi G, Mazzeo G, Boccia M, Aronne L, D'Agnano V, Komici K, Mazzarella G, Parrella R, Bianco A. Correction to: COVID-19 and the elderly patients: insights into pathogenesis and clinical decision-making. *Aging Clin Exp Res*. 2020 Sep; 32(9): 1909. doi: 10.1007/s40520-020-01700-2. Erratum for: *Aging Clin Exp Res*. 2020 Aug;32(8):1599-1608. PMID: 32902821; PMCID: PMC7479295.
35. Chen Y, Klein SL, Garibaldi BT, Li H, Wu C, Osevala NM, Li T, Margolick JB, Pawelec G, Leng SX. Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Res Rev*. 2021 Jan; 65: 101205. doi: 10.1016/j.arr.2020.101205. Epub 2020 Oct 31. PMID: 33137510; PMCID: PMC7604159.
36. Palaiodimos L, Kokkinidis DG, Li W, Karamanis D, Ognibene J, Arora S, Southern WN, Mantzoros CS. Severe obesity, increasing age and male sex are independently associated with worse in-hospital outcomes, and higher in-hospital mortality, in a cohort of patients with COVID-19 in the Bronx, New York. *Metabolism*. 2020 Jul; 108: 154262. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154262. Epub 2020 May 16. PMID: 32422233; PMCID: PMC7228874.
37. Landecho MF, Marin-Oto M, Recalde-Zamacona B, Bilbao I, Frühbeck G. Obesity as an adipose tissue dysfunction disease and a risk factor for infections - Covid-19 as a case study. *Eur J Intern Med*. 2021 Sep; 91: 3-9. doi: 10.1016/j.ejim.2021.03.031. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33858724; PMCID: PMC8017564.
38. Ogunniyi MO, Commodore-Mensah Y, Ferdinand KC. Race, Ethnicity, Hypertension, and Heart Disease: JACC Focus Seminar 1/9. *J Am Coll Cardiol*. 2021 Dec 14; 78(24): 2460-2470. doi: 10.1016/j.jacc.2021.06.017. PMID: 34886968.
39. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019

May;15(5):288-298. doi: 10.1038/s41574-019-0176-8. PMID: 30814686.

40. Yates T, Zaccardi F, Islam N, Razieh C, Gillies CL, Lawson CA, Chudasama Y, Rowlands A, Davies MJ, Docherty AB, Openshaw PJM, Baillie JK, Semple MG; ISARIC4C investigators, Khunti K. Obesity, Ethnicity, and Risk of Critical Care, Mechanical Ventilation, and Mortality in Patients Admitted to Hospital with COVID-19: Analysis of the ISARIC CCP-UK Cohort. *Obesity (Silver Spring)*. 2021 Jul;29(7):1223-1230. doi: 10.1002/oby.23178. Epub 2021 May 14. PMID: 33755331; PMCID: PMC8251439.