

Geórgia das Graças Pena



**C G
T A
A G
G C
C G
T A
A G
G C**

**ANÁLISE GENÉTICA DE FENÓTIPOS CARDIOMETABÓLICOS
COMPLEXOS EM POPULAÇÃO URBANA E RURAL DE MINAS GERAIS**

**Belo Horizonte
2014**

Geórgia das Graças Pena

**ANÁLISE GENÉTICA DE FENÓTIPOS CARDIOMETABÓLICOS
COMPLEXOS EM POPULAÇÃO URBANA E RURAL DE MINAS GERAIS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Saúde e Enfermagem.

Área de concentração: Saúde e Enfermagem

Linha de Pesquisa: Promoção da Saúde, Prevenção e Controle de Agravos.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez

**Belo Horizonte
2014**

P397a Pena, Geórgia das Graças.
Análise genética de fenótipos cardiometabólicos complexos em população urbana e rural de Minas Gerais [manuscrito]. / Geórgia das Graças Pena. - - Belo Horizonte: 2014.

156f.: il.

Orientador: Jorge Gustavo Velásquez Meléndez.

Área de concentração: Saúde e Enfermagem.

Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Predisposição Genética para Doença. 2. Poliformismo Genético. 3. Pleiotropia Genética. 4. Análise de Variância. 5. Receptores de Leptina. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Meléndez, Jorge Gustavo Velásquez. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. III. Título

NLM: QZ 50

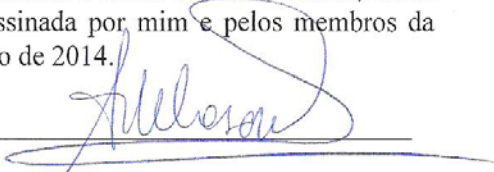
ATA DE NÚMERO 042 (QUARENTA E DOIS) DA SESSÃO PÚBLICA DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA TESE APRESENTADA PELA CANDIDATA GEÓRGIA DAS GRAÇAS PENA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM ENFERMAGEM.

Aos 26 (vinte e seis) dias do mês de fevereiro de dois mil e quatorze, às 14:00 horas, realizou-se no Anfiteatro da Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, a sessão pública para apresentação e defesa da tese "*ANÁLISE GENÉTICA DE FENÓTIPOS CARDIOMETABÓLICOS COMPLEXOS EM POPULAÇÃO URBANA E RURAL DE MINAS GERAIS*", da aluna **Geórgia das Graças Pena**, candidata ao título de "Doutora em Enfermagem", linha de pesquisa "Prevenção e Controle de Agravos à Saúde". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes professores doutores: Jorge Gustavo Velásquez Meléndez (orientador), Maria Raquel Santos Carvalho, Sérgio William Viana Peixoto, Júlia Maria Pavan Soler e Alfredo Maurício Batista de Paula, sob a presidência do primeiro. Abrindo a sessão, o Senhor Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

- APROVADA;**
- APROVADA COM AS MODIFICAÇÕES CONTIDAS NA FOLHA EM ANEXO;**
- REPROVADA.**

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Senhor Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Grazielle Cristine Pereira, Secretária do Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 26 de fevereiro de 2014.

Prof. Dr. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez
 Orientador (Esc.Enf/UFMG)



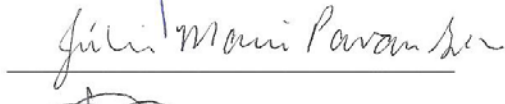
Prof.ª. Dr.ª. Maria Raquel Santos Carvalho
 (ICB/UFMG)



Prof. Dr. Sérgio William Viana Peixoto
 (Esc.Enf/UFMG)



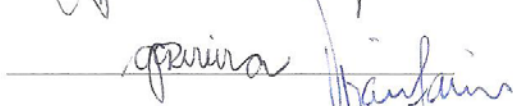
Prof.ª. Dr.ª. Júlia Maria Pavan Soler
 (USP)



Prof. Dr. Alfredo Maurício Batista de Paula
 (UNIMONTES)



Grazielle Cristine Pereira
 Secretária do Colegiado de Pós-Graduação



Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
 Coordenador do Colegiado de Pós-Graduação
 ESCOLA DE ENFERMAGEM/UFMG

HOMOLOGADO em reunião do CRG
 Em 10/03/2014

Este trabalho é vinculado ao Núcleo Interdisciplinar de Estudos e Pesquisas em Epidemiologia (NIEPE) da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais.

DEDICATÓRIA

Ao Juan Carlos Souto

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças em todos os momentos e coragem para continuar.

Aos meus pais, David e Glória, meus primeiros professores; especialmente à minha mãe, que nunca desistiu da educação.

Aos meus irmãos, Gener, Dárlen, Breno, sobrinhos e família, pela convivência e torcida nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez, pelo aprendizado, por me permitir trabalhar em projetos diferenciados e pela permissão no direcionamento dos mesmos.

À Profa. Dra. Andréa Gazzinelli, pela coordenação de coleta de dados na área rural e pelo excelente apoio de sua equipe de trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG -, pelo financiamento da pesquisa em área urbana.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa ofertada durante o período do doutorado parcialmente realizado no exterior (Proc. nº 6110-13-4).

Ao Francisco, por sua capacidade de resolver todos os problemas de informática em tantas urgências! Pela paciência e carinho...Minha eterna gratidão!

Ao grupo de pesquisa em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros: Prof. André, Rosângela, Tatiana e equipe de coleta, pela dedicação e seriedade. Com vocês, a caminhada foi mais leve!

A Miriam Santos Dutra, pela amizade e auxílio nos primeiros passos para desvendar o SOLAR.

Às colegas do grupo de pesquisa: Milene, Larissa, Mariana, Alexandra, Tatiana, Fernanda, Hanriete, Crizian, Mayara e Ana, pelo convívio e alívio nos momentos de desespero.

Ao grupo de pesquisa de la Unit of Genomic of Complexes Diseases do Hospital de la Santa Creu i Sant Pau: Helena, Juan Carlos, Angel, Andrey, Nuria, Georgios, Raquel, Biel, Miquel, Olga, Laura, Sonia e Bill Stone: por confiarem no meu trabalho e na minha capacidade!! Não tenho palavras para descrever o quanto vocês foram importantes para meu crescimento. Especialmente ao Prof. José Manuel Soria, por me receber no doutorado de braços abertos, além de permitir trabalhos atuais e futuros em conjunto.

Aos amigos André, Rodrigo, Alejandra, Oscar, Daniel, Leandro e Mário, pela amizade e companhia em tantos bons momentos!

Às amigas/irmãs Handreane, Tatiana, Sílvia, Cecília, Lizziani, Juliana, Vanessa e Lívia.

A todos os voluntários e demais pessoas que gentilmente me auxiliaram em algum momento a desenvolver este trabalho. MUITO OBRIGADA!!!

RESUMO

Fenótipos cardiometabólicos como doenças cardiovasculares, obesidade, resistência à insulina, diabetes, alteração nos níveis lipídicos são responsáveis por elevada mortalidade e outras complicações. A predisposição genética influencia diversos aspectos do metabolismo que elevam o risco, e, conseqüentemente, contribui para o aumento da prevalência desses fenótipos, sendo uma das áreas promissoras na descoberta da etiogênese das doenças crônicas. Portanto, o objetivo do estudo foi investigar potenciais associações genéticas - utilizando diferentes estratégias de análise - com fenótipos cardiometabólicos por meio da estimativa da herdabilidade em população rural e da estimativa de ocorrência do polimorfismo do receptor de leptina (LEPR) Gln223Arg em população urbana, ambas em Minas Gerais. Para tal, foram utilizados dois estudos transversais. O primeiro foi realizado nas áreas rurais de Virgem das Graças, Caju e São Pedro do Jequitinhonha, no qual 931 indivíduos pertencentes a 89 pedigrees foram fenotipados. Nesse estudo foi utilizada a estratégia de estimativa de herdabilidade (h^2), correlações genéticas e ambientais e sua associação com níveis lipídicos, índice de massa corporal, circunferência abdominal e pressão arterial. No segundo estudo foi utilizada a avaliação da frequência do polimorfismo do LEPR Gln223Arg e potenciais associações com sobrepeso, obesidade, obesidade abdominal e gordura corporal. As estimativas de h^2 para os fenótipos avaliados variaram de 28 a 60%, e correlações genéticas (ρ_g) significativas foram encontradas para a maioria dos pares de fenótipos avaliados (considerando os modelos ajustados): triglicérides - VLDL ($\rho_g=0,99$), colesterol total - LDL ($\rho_g=0,90$), pressão arterial diastólica - triglicérides ($\rho_g=0,63$), pressão arterial diastólica - VLDL ($\rho_g=0,59$), além do triglicérides-colesterol total ($\rho_g=0,58$). De forma geral, as correlações genéticas foram superiores às correlações ambientais. Foram encontrados efeito *household* para HDL ($c^2 = 0,21$; $p<0,001$), VLDL ($c^2 = 0,10$; $p=0,010$) e hipertensão ($c^2 = 0,14$; $p=0,015$). Por fim, foi encontrada pleiotropia incompleta para a maioria dos pares de fenótipos avaliados e pleiotropia completa para triglicérides - VLDL, o que significa que esses fenótipos são controlados por um único gene ou determinado conjunto de genes. Por outro lado, no estudo em área urbana foram observadas elevadas frequências de fenótipos cardiometabólicos, sendo 19,4% de obesidade, 26,8% de circunferência abdominal e 49,1% de gordura corporal elevada, além de 34,90% com níveis pressóricos alterados. A prevalência dos genótipos AA, AG e GG do polimorfismo LEPR Gln223Arg foi de 38,4%, 49,3%, 12,3%, respectivamente. Tanto nas análises univariadas quanto nos modelos de regressão propostos, o polimorfismo LEPR Gln223Arg não foi associado com os fenótipos cardiometabólicos avaliados. Em suma, foram encontradas herdabilidades significativas e pleiotropia em área rural, o que pode direcionar possíveis mecanismos genéticos no desenvolvimento de fenótipos cardiometabólicos. Entretanto, o polimorfismo LEPR Gln223Arg não se associou aos indicadores de excesso de peso em área urbana.

Palavras-chave: Predisposição genética para doença. Polimorfismo genético. Pleiotropia genética. Fenótipos cardiometabólicos. Herdabilidade. Particionamento de variância. Receptor de leptina Gln223Arg. Polimorfismo Q223R.

ABSTRACT

Cardiometabolic phenotypes such as cardiovascular diseases, obesity, insulin resistance, diabetes, high level of lipids were responsible for high mortality and its complications. Genetics could influence metabolism in many aspects and it could contribute to the high prevalence of these phenotypes. Therefore, the objective of this study was to research the cardiometabolic phenotypes with different strategies of genetic analyses using the estimate of heritability in a rural area, in Vale do Jequitinhonha and to associate the leptin receptor polymorphism (LEPR) Gln223Arg in an urban area, in Minas Gerais. Both studies were cross-sectional. The first study was conducted in the rural area of Virgem das Graças, Caju and São Pedro do Jequitinhonha, in which 931 individuals of 89 pedigrees were phenotyped. In the first study, the strategy of estimating heritability (h^2), pleiotropy and its association with lipid levels, body mass index, waist circumference and blood pressure was evaluated. In the second study, the frequency of the LEPR Gln223Arg and the potentials associations with overweight, obesity, abdominal obesity and higher body fat was evaluated. The h^2 estimates for the phenotypes evaluated ranged 28 to 60% and significant genetic correlations (ρ_g) were found for most pairs of phenotypes evaluated mainly among triglycerides - VLDL ($\rho_g = 0.99$), total cholesterol - LDL ($\rho_g = 0.90$), diastolic blood pressure - triglycerides ($\rho_g = 0.63$) and diastolic blood pressure - VLDL ($\rho_g = 0.59$), total cholesterol - triglycerides ($\rho_g = 0.58$). In general, genetic correlations were higher than the environmental correlations. Household effects have been found for HDL ($c^2 = 0.21$, $P < 0.001$) and VLDL ($c^2 = 0.10$, $P = 0.010$) and hypertension ($c^2 = 0.14$, $P = 0.015$). Finally, to complete pleiotropy found between VLDL - triglycerides, it means that these phenotypes are controlled by a single gene or by a set of genes. Moreover, in the urban area, high levels of cardiometabolic phenotypes were observed: 19.4% of obesity, 26.8% of abdominal obesity, 49.1% of high body fat and 34.9% of high blood pressure. The prevalence of AA, AG and GG polymorphism LEPR Gln223Arg genotypes were 38.4%, 49.3 %, 12.3%, respectively. The LEPR Gln223Arg polymorphism was not associated with cardiometabolic phenotypes evaluated in the univariate analyses nor in the multivariate regression models. The significant heritabilities and pleiotropy were found in the rural area, which can direct potential genetic mechanisms of cardiometabolic phenotypes. However, LEPR Gln223Arg polymorphism was not associated with indicators of overweight in the urban area.

Key-words: Genetic predisposition to disease. Polymorphism genetic. Genetic pleiotropy. Cardiometabolic Phenotypes. Heritability. Variance partitioning. Leptin receptor Gln223Arg, Q223R polymorphism.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Exemplo de heredograma em Virgem das Graças do estudo da área rural, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais 23**
- Figura 2 – Representação do gene do receptor da leptina e polimorfismo Gln223Arg mostrando a troca de bases e de aminoácidos nas respectivas posições..... 29**
- Figura 3 - Consequências metabólicas da deficiência ou resistência à leptina 31**
- Figura 4 - Possíveis fatores intervenientes entre genótipo e fatores cardiometabólicos 31**
- Figura 5 – Esquema proposto para variáveis potencialmente associadas à ocorrência de desfechos relacionados aos fatores cardiometabólicos complexos em área rural (à esquerda) e urbana (à direita) em Minas Gerais. 35**
- Figura 6 - Mapa de Minas Gerais mostrando a capital Belo Horizonte e as cidades Ponto dos Volantes e Jequitinhonha, as quais pertencem a Virgem das Graças, Caju e São Pedro do Jequitinhonha, respectivamente..... 38**
- Figura 7 – Fluxograma da população de estudo em área rural, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais 40**
- Figura 8 - Mapa de Minas Gerais mostrando a capital Belo Horizonte e a cidade de Montes Claros 47**
- Figura 9 – Fluxograma da população selecionada no estudo de área urbana, Montes Claros-Minas Gerais 49**

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 -Resumo dos principais estudos de família que continham a estimativa de herdabilidade de fenótipos cardiometabólicos relacionados ao nível lipídico 26**
- Quadro 2- Resumo dos principais estudos de família que continham a estimativa de herdabilidade de fenótipos cardiometabólicos relacionados aos fatores antropométricos e níveis pressóricos..... 27**
- Quadro 3 -Resumo dos principais estudos que avaliaram a associação do receptor de leptina Gln223Arg com fenótipos de excesso de peso em adultos 33**
- Quadro 4 -Descrição dos desfechos relacionados ao excesso de peso..... 59**
- Quadro 5 -Descrição da variável exposição principal (Polimorfismo do Receptor de Leptina Gln223Arg) e potenciais variáveis de confusão: características demográficas, socioeconômicas, ambientais e comportamentais 60**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos pedigrees em Virgem das Graças (2008), Caju (2009) e São Pedro do Jequitinhonha (2010), Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais	63
Tabela 2 - Distribuição das relações parentais dos pedigrees em Virgem das Graças (2008), Caju (2009) e São Pedro do Jequitinhonha (2010), Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais	64
Tabela 3 – Distribuição das características clínicas individuais por sexo na população total, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, 2008-2010	65
Tabela 4 - Estimativas da herdabilidade dos fenótipos cardiometabólicos nos modelos não ajustados e ajustados na população total, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, 2008-2010.....	66
Tabela 5 - Correlação genética e ambiental entre fenótipos cardiometabólicos na população total, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, 2008-2010	68
Tabela 6 - Distribuição da população estudada segundo as características demográficas e socioeconômicas de acordo com o sexo. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013	71
Tabela 7 - Distribuição da população estudada segundo características antropométricas, clínicas e estilo de vida de acordo com o sexo. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013.....	73
Tabela 8 - Distribuição alélica, genotípica e das frequências observadas e esperadas do polimorfismo do LEPR Gln223Arg segundo sexo na população urbana de Montes Claros - Minas Gerais, 2012-2013	74
Tabela 9 - Distribuição da população estudada segundo grupos de genótipos. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013.....	75
Tabela 10 -Associação do polimorfismo LEPR Gln223Arg e indicadores de excesso de peso. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013.....	76

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%GC	Percentual de gordura corporal
ABEP	Associação Brasileira de Empresas de Pesquisas
CA	Circunferência abdominal
CCEB	Critério de Classificação Econômica Brasil
CEP	Conselho de Ética e Pesquisa
CT	Colesterol total
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
dNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EP	Erro padrão
GWAS	<i>Genome wide association studies</i>
h^2	Herdabilidade
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC 95%	Intervalo de 95% de confiança
IMC	Índice de Massa Corporal
IPAQ	<i>International Physical Activity Questionnaire</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LEPR	Receptor da leptina
LEPR Gln223Arg	Polimorfismo do receptor de leptina Gln223Arg
Log	Logaritmo
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão arterial
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PCR	Reação em cadeia da polimerase
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
RFLP	<i>Restriction fragment length polymorphism</i>

RP	Razão de prevalências
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
SOLAR	<i>Sequential Oligogenic Linkage Analysis Routine</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
STATA	<i>Statistical Software for Professional</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGL	Triglicérides
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Epidemiologia dos Fenótipos Cardiometabólicos	18
1.2 Estratégias de Análise Genética: Herdabilidade e Análise de Polimorfismos Genéticos	20
<i>1.2.1 Fatores Cardiometabólicos em Estudos de Herdabilidade</i>	21
<i>1.2.2 Fatores Cardiometabólicos, Leptina e Polimorfismo do Receptor de Leptina Gln223Arg</i>	28
1.3 Apresentação dos Estudos	35
2 OBJETIVOS	36
2.1 Objetivo Geral	36
2.2 Objetivos Específicos	36
3 MÉTODOS	37
3.1 Estudo em Área Rural	37
<i>3.1.1 Delineamento e Área do Estudo</i>	37
<i>3.1.2 População Acessível</i>	38
<i>3.1.3 Questões Éticas</i>	39
<i>3.1.4 Procedimentos para Coleta de Dados</i>	40
<u>3.1.4.1 Variáveis Demográficas e Socioeconômicas</u>	41
<u>3.1.4.2 Medidas Antropométricas</u>	41
<u>3.1.4.3 Variáveis Clínicas e Hábitos de Vida</u>	42
<u>3.1.4.4 Variáveis Bioquímicas</u>	44
<u>3.1.4.5 Determinação Genealógica e Construção dos Pedigrees</u>	45
<u>3.1.4.6 Confirmação Genética dos Pedigrees</u>	45
<i>3.1.5 Processamento de Dados e Análise Estatística</i>	46
3.2 Estudo em Área Urbana	47
<i>3.2.1 Delineamento e Área do Estudo</i>	47
<i>3.2.2 População Acessível e Amostragem</i>	48
<i>3.2.3 Questões Éticas</i>	50
<i>3.2.4 Procedimento para Coleta de Dados</i>	50
<u>3.2.4.1 Variáveis Demográficas e Socioeconômicas</u>	51
<u>3.2.4.2 Medidas Antropométricas e de Composição Corporal</u>	54
<u>3.2.4.3 Análises Genéticas</u>	56

<i>3.2.5 Processamento dos Dados e Análise Estatística</i>	58
<u>3.2.5.1 Variáveis Dependentes</u>	58
<u>3.2.5.2 Variável Independente</u>	59
4 RESULTADOS	62
4.1 Estudo de Herdabilidade, Correlações Genéticas e Ambientais de Fenótipos Cardiometabólicos em Áreas Rurais, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais	62
<i>4.1.1 Características dos Participantes e Descrição dos Pedigrees</i>	62
<i>4.1.2 Estimativa de Herdabilidade</i>	66
<i>4.1.3 Correlações Genética e Ambiental</i>	67
4.2 Estudo da Associação dos Fatores Cardiometabólicos, Polimorfismo do Receptor de Leptina Gln223arg e Indicadores de Excesso de Peso	70
<i>4.2.1 Características dos Participantes e Descrição da População</i>	70
<i>4.2.2 Características Clínicas, Estado Nutricional e Hábitos de Vida</i>	72
<i>4.2.3 Frequência do Polimorfismo Gln223arg e sua Associação com Fenótipos Cardiometabólicos</i>	72
5 DISCUSSÃO	77
5.1 Herdabilidade, Correlações Genéticas e Ambientais de Fenótipos Cardiometabólicos em Áreas Rurais, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais	77
5.2 Frequência do Polimorfismo Gln223Arg e sua Associação com Fenótipos Cardiometabólicos	81
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
REFERÊNCIAS	89
ANEXOS	110

1 INTRODUÇÃO

Fenótipos cardiometabólicos como resistência à insulina, diabetes *mellitus* (DM) tipo 2 e obesidade são os maiores determinantes das doenças cardiovasculares (DCV), responsáveis por elevada mortalidade e outras complicações (BO *et al.*, 2012; CAMERON *et al.*, 2013).

Ainda, fatores ambientais tais como o sedentarismo e dieta com alto teor calórico também contribuem para o diabetes (BHOPAL, 2013; HE *et al.*, 2012). Estudos têm indicado que as alterações no metabolismo da glicose podem refletir a inflamação crônica associada à expressão do tecido adiposo (BASTARD *et al.*, 2006). Em geral, uma maior atividade metabólica e a expansão do tecido adiposo aumentam a produção de ácidos graxos livres e os fatores inflamatórios (GREENBERG; OBIN, 2006). Assim, o excesso de peso leva à perda do controle homeostático ou deterioração do estado metabólico, tal como resistência à insulina, hipertensão, inflamação crônica e estado pré-trombótico, os quais contribuem para a aceleração do desenvolvimento de aterosclerose (SCHMIDT *et al.*, 1996).

Em geral esses fatores podem agir juntos como importantes determinantes genéticos ou podem ser dependentes dos diferentes fatores ambientais. Além disso, estudos têm identificado influência genética nos fenótipos associados com desordens metabólicas que incluem múltiplas medidas de adiposidade (RICE *et al.*, 1999), hiperinsulinemia e resistência à insulina (MAYER *et al.*, 1996). Esses resultados são consistentes com os estudos de população de gêmeos e pedigrees com elevado número de membros, mostrando moderada e alta herdabilidade de vários traços associados à antropometria, níveis de glicemia e lipídeos séricos (RAO *et al.*, 2012, SOUREN *et al.*, 2007, SUNG *et al.*, 2009; VALLE *et al.* 2011).

A avaliação da herdabilidade dos fenótipos antropométricos, clínicos e bioquímicos pode providenciar a base para análises e mais evidências para a detecção da ligação dos mecanismos metabólicos no desenvolvimento de doenças crônicas. Contudo, muitos aspectos da contribuição genética dessas doenças permanecem inconclusivos, particularmente em populações miscigenadas, tais como a do Brasil (PARRA *et al.*, 2003; PIMENTA *et al.*, 2006). Permanecem também pouco conhecidos a magnitude dos efeitos pleiotrópicos e quais e como os genes estão envolvidos nas doenças (PIMENTA *et al.*, 2006).

A estimativa da herdabilidade e as correlações genéticas têm sido pouco investigadas nas populações brasileiras, particularmente em áreas rurais onde as populações são razoavelmente homogêneas e a variação ambiental pode ser reduzida, sendo considerada relativamente uniforme (HEUTINK; OOSTRA, 2002).

Adicionalmente, o Brasil é um país onde o rápido e intenso fenômeno de transição nutricional em áreas rurais, nas quais coexistem condições tais como desnutrição, obesidade e elevada prevalência de síndrome metabólica (ABALLAY *et al.*, 2013; VELASQUEZ-MELENDEZ *et al.*, 2007a), as quais providenciam um conjunto atrativo de traços quantitativos para estimativas de herdabilidade, além da investigação das correlações genética e ambiental.

Por outro lado, a leptina é um hormônio específico expresso pelo gene que regula o balanço energético e ações biológicas diversas agindo através de diferentes sistemas neuroendócrinos (TRAYHURN, *et al.*, 1999). Existem várias evidências da associação entre variantes do gene que codifica o receptor da leptina e sua influência no metabolismo do hormônio, afetando tanto a função biológica quanto os níveis séricos desse hormônio (ROSMOND *et al.*, 2000; WAUTERS *et al.*, 2001a; MATTEVI *et al.*, 2002).

Nesse sentido, especificamente o polimorfismo do receptor de leptina (LEPR Gln223Arg) tem sido mencionado como um dos fatores de predisposição genética para o sobrepeso e outros eventos cardiometabólicos (WAUTERS *et al.*, 2001a; WAUTERS *et al.*, 2001b; CHAGNON *et al.*, 1999; CHAGNON *et al.*, 2000; QUINTON *et al.*, 2001; YIANNAKOURIS *et al.*, 2001a). Uma vez que o LEPR Gln223Arg tem importância funcional na obesidade, o mesmo pode gerar outras complicações, como a resistência à insulina e ao DM tipo 2 (TRAYHURN, *et al.*, 2006).

Estudos com o receptor de leptina são importantes para elucidar o impacto das variantes genéticas no metabolismo, uma vez que diversos trabalhos têm encontrado associações com variados fenótipos da obesidade, diabetes e peso corporal (SALOPURO *et al.*, 2005). Para nosso conhecimento, não existem dados que avaliem a prevalência do LEPR Gln223Arg em estudo de base populacional.

Contudo, o principal objetivo do estudo foi estimar a herdabilidade, correlações genéticas e ambientais de fenótipos associados a indicadores de excesso de peso e níveis lipídicos em área rural e a estimativa de ocorrência do polimorfismo do LEPR Gln223Arg e potenciais associações com indicadores de excesso de peso em população urbana de Montes Claros.

1.1 Epidemiologia dos Fenótipos Cardiometabólicos

Fenótipos cardiometabólicos têm causas multifatoriais e sofrem ação de uma complexa rede de causas e fatores de risco relacionados (LANDER; SCHORK, 1994; LANDER; KRUGLYAK, 1995; WRIGHT *et al.*, 1999; LOOS; BOUCHARD, 2003). Mesmo levando em consideração a influência de diversos fatores ambientais, a genética muitas vezes é a responsável pela variabilidade fenotípica encontrada nas populações (SPEICHER *et al.*, 2010).

Assim, nas últimas décadas, o conceito de fatores cardiometabólicos foi evoluindo em torno de um conjunto de condições que favorecem o desenvolvimento de fenótipos intermediários, como resistência à insulina, alteração dos lipídeos séricos, circunferência abdominal elevada ou inflamação crônica que, conseqüentemente, acarretam doenças crônicas, como hipertensão, DM tipo 2, DCV e obesidade (BLACKETT; SANGHERA, 2013), sendo considerados os maiores determinantes das DCV e suas complicações (CAMERON *et al.*, 2013).

Portanto, o termo fenótipos cardiometabólicos refere-se a todo fator de risco para doenças crônicas ou à própria doença, justificado pela complexidade do envolvimento nas rotas metabólicas. Por exemplo, as DCV estão relacionadas aos fenótipos complexos de etiologia multifatorial, como obesidade, pressão arterial não controlada, aumento da circunferência abdominal, e nas frações de LDL e triglicérides, diminuição do HDL (PERUSSE *et al.*, 1989; EDWARDS *et al.*, 1999; HOKANSON *et al.*, 2003; JOHN; AMIR, 2003; KRAUSS, 2004; FEITOSA *et al.*, 2005; MARCOPITO *et al.*, 2005), presença da síndrome metabólica (LAWS *et al.*, 1989; SCHUMACHER *et al.*, 1992; TANG *et al.*, 2006), do diabetes (MALHOTRA; WOLFORD, 2005), ou, ainda, presença de polimorfismos genéticos (SHAH, 2007).

Apesar dos avanços nos estudos epidemiológicos sobre os fatores de risco cardiometabólicos, muitas variáveis que contribuem para o seu desenvolvimento permanecem não compreendidas, tendo os estudos genéticos um grande potencial para futuras pesquisas (HOKANSON *et al.*, 2003; FEITOSA *et al.*, 2005; SHAH, 2007).

Reforçando a potencial contribuição da genética nas doenças crônicas, estudos afirmam que a história familiar para DCV é um fator de risco relevante (DAVIGNON; GENEST, 1998; GENEST, 2003), esclarecendo que os fenótipos cardiometabólicos possuem componentes hereditários (RUST *et al.*, 1999; BODZIOCH *et al.*, 1999).

Portanto, a genética pode contribuir substancialmente para o desenvolvimento dos fenótipos cardiometabólicos (WARDLE *et al.*, 2008), sugerindo que o efeito dos genes depende também da exposição ambiental o que implica interações geneambientais (ROKHOLM *et al.*, 2011).

Os estudos genéticos sobre obesidade, por exemplo, mostram elevada herdabilidade do índice de massa corporal (IMC), mesmo que a contribuição ambiental das sociedades industrializadas atuais aumente a suscetibilidade à obesidade (WARDLE *et al.*, 2008). Nesse caso, as contribuições genéticas são evidentes, mesmo considerando a influência do ambiente obesogênico.

Assim, por conta da relevância das doenças crônicas de elevada prevalência (descritas a seguir) e a potencial contribuição genética para o seu desenvolvimento, são importantes estudos que investiguem diferentes estratégias de análise para melhor compreender as relações genéticas ainda não totalmente entendidas.

Quanto à epidemiologia das doenças crônicas e fatores de risco de maior relevância, as doenças cardiovasculares (DCV) lideram a causa de morte global, representando 30% da carga global de doenças e sendo responsáveis por 17,3 milhões de mortes. Por outro lado, o DM tipo 2 afeta 347 milhões de pessoas, e 80% de suas mortes ocorrem em países subdesenvolvidos ou em vias de desenvolvimento, ocupando o sétimo lugar por causas gerais de mortalidade (WHO, 2013a). O sobrepeso e a obesidade, por sua vez, são fenótipos de risco intermediário para várias doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), considerados os maiores fatores de risco para o DM além das DCV, influenciando também no risco global de mortes (WHO, 2013a; WHO, 2013b, LIM *et al.*, 2012).

A obesidade praticamente dobrou desde os anos 80, sendo que aproximadamente 500 milhões de adultos estão obesos e 65% da população do mundo vive em países onde o sobrepeso e a obesidade são maiores que o baixo peso (WHO, 2013b).

No Brasil, 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres estão obesos de acordo com os últimos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (IBGE, 2010a). Segundo dados mais atuais do estudo de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico – VIGITEL – realizado em 2012, 17,4% estão obesos, sendo 16,5% homens e 18,2% mulheres (BRASIL, 2012), estando mais da metade (51%) com sobrepeso, o que reforça a necessidade de estudos que avaliem a contribuição genética e ambiental desses fatores.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2006), no relatório de Prevenção de Doenças por meio do Ambiente Saudável, os aspectos ambientais são responsáveis por 23% da carga global de doenças, o que pode contribuir para a elevada prevalência de DCNT ou fenótipos cardiometabólicos intermediários (WHO, 2006a).

Dentre os principais fatores de risco para DCNT destacam-se o tabagismo, o consumo excessivo de bebidas alcoólicas, dietas inadequadas e o sedentarismo como parte dos fatores ambientais que modulam o risco de desenvolvimento de fenótipos cardiometabólicos (WHO, 2006a).

Essas divergências sobre o nível de contribuição da genética e do ambiente podem ser discutidas à luz das interações geneambientais, ou seja, compreender que a genética sofre ação da exposição ambiental. Por exemplo, alguns estudos mostram baixa herdabilidade para obesidade em indivíduos fisicamente mais ativos (HEITMANN *et al.*, 1997, KARNEHED *et al.*, 2006).

Ainda no que diz respeito à relação entre fatores genéticos e ambientais, essa pode tanto diminuir o efeito observável das estimativas genéticas como evidenciá-lo, permitindo a observação do fenótipo de risco (WARDLE *et al.*, 2008, ROKHOLM *et al.*, 2011).

Para melhor compreender os diferentes níveis de influência genética *versus* ambiente, podem-se considerar três níveis diferentes de suscetibilidade genética para obesidade (determinado pela genética, com moderada/leve predisposição genética e resistentes geneticamente). Assim, indivíduos com forte predisposição genética à obesidade em um ambiente que não seja obesogênico provavelmente seriam pessoas com excesso de peso, mas se tornam obesos severos em um ambiente obesogênico. No outro extremo, indivíduos geneticamente resistentes à obesidade permanecem com peso normal ou quase normal em vários níveis de exposição a ambientes obesogênicos (LOOS; BOUCHARD, 2003).

Tomados juntos, diante da elevada prevalência das DCNT e indícios de contribuição genética considerável nos fenótipos cardiometabólicos, há um grande potencial nas investigações utilizando-se diferentes estratégias de análise genética.

1.2 Estratégias de Análise Genética: Herdabilidade e Análise de Polimorfismos Genéticos

O objetivo principal da análise genética é compreender as relações causais que ligam a variação observada em fenótipos pela variação genética subjacente na população (SPEICHER *et al.*, 2010).

Os fatores genéticos muitas vezes podem contribuir para o desenvolvimento de doenças crônicas, entretanto, até recentemente, a identificação de variantes genéticas que contribuem substancialmente para as doenças complexas tem sido relativamente pouco expressiva (HARDY; SINGLETON, 2009), sendo um potencial campo para futuras investigações, apesar do grande número de artigos publicados sobre genética e DCNT atualmente.

A melhor compreensão dos processos moleculares devido ao desenvolvimento de tecnologias permitiu análise mais detalhada do DNA (*Deoxyribonucleic acid*), que permitiu a melhoria dos procedimentos nas investigações científicas e ampliou as estratégias de análise genética (SPEICHER *et al.*, 2010).

Os estudos de famílias têm várias características favoráveis para a descoberta de genes, nos quais pedigree com grande número de membros ou de núcleos familiares são capazes de representar um conjunto mais homogêneo e limitado de genes “causadores de doenças”, aumentando o poder estatístico para as investigações e permitindo a descoberta de novos *loci* e seus respectivos mecanismos (BORECKI; PROVINCE, 2008).

Por outro lado, a avaliação de polimorfismos de único nucleotídeo (*Single Nucleotide Polymorphism – SNP*) é uma ferramenta útil, amplamente utilizada, relativamente prática e de custo moderado, comparada a outros métodos. Ela permite observar variações nas sequências do DNA que afetam o metabolismo e o desenvolvimento dos fenótipos de risco.

Os SNP ainda são úteis como marcadores genéticos em estudos de associação ampla de genoma, os *Genome wide association studies* (GWAS), por causa da sua quantidade de SNP avaliada e da herança estável ao longo de gerações (NACHMAN, 2001).

Portanto, pela possibilidade de utilização de diferentes estratégias de análise genética, nos próximos tópicos serão apresentados os principais trabalhos encontrados na literatura pertinentes ao foco do presente estudo.

1.2.1 Fatores Cardiometabólicos em Estudos de Herdabilidade

A herdabilidade é a proporção da variação fenotípica devida à variação genética (SPEICHER *et al.*, 2010), isto é, mede o nível da correspondência entre o fenótipo e a genética (ALMASY; BLANGERO, 1998). A função da herdabilidade no estudo genético refere-se ao seu papel preditivo, expressando a confiança do valor fenotípico como um guia para justificar investigações genéticas mais avançadas, como, por exemplo, os estudos GWAS (THOMPSON, 2013).

Esse tipo de análise genética se baseia no fato de que as gerações subsequentes são influenciadas pelo valor genético herdável, assim, com o fenótipo e as informações das relações familiares (pedigree), pode ser mensurada a herdabilidade (SPEICHER *et al.*, 2010). A partir desses dados, heredogramas podem ser elaborados para melhor visualização dos traços e do comportamento da segregação fenotípica entre gerações, conforme exemplo apresentado pela Figura 1.

A herdabilidade, portanto, é calculada baseada na teoria da genética quantitativa, que define a herdabilidade como a proporção da variância total fenotípica resultante de efeitos genéticos aditivos calculada por meio da fórmula $h^2 = \sigma_g^2 / \sigma_F^2$, sendo a σ_g^2 , variância genética e σ_F^2 , a variância do fenótipo, sendo o principal objetivo da análise genética o entendimento das relações observadas no fenótipo de acordo com a variação genética da população (SPEICHER *et al.*, 2010).

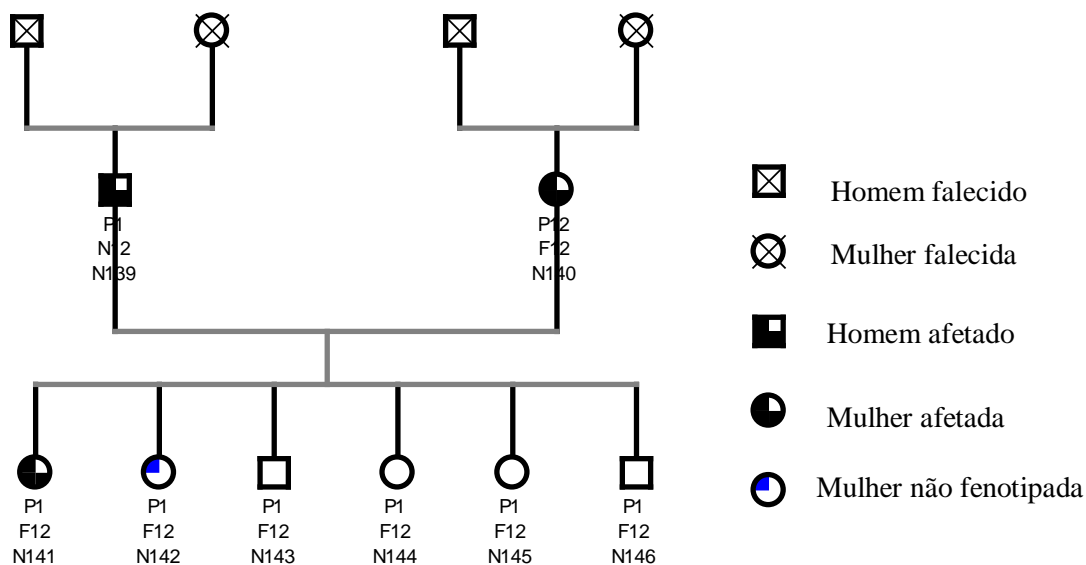
Após o cálculo da herdabilidade, o particionamento da variância é um dos maiores objetivos dos estudos nesse contexto para a observação da contribuição genética e ambiental nos traços avaliados.

Assim, as correlações genética (ρ_g) e ambiental (ρ_a) representam o efeito aditivo poligênico de genes compartilhados (pleiotropia) e, desse valor, fatores ambientais (não genéticos) na variância fenotípica de cada traço. A estimativa da correlação fenotípica (total) entre dois traços é obtida através da fórmula $\rho_F = \sqrt{h^2_1 h^2_2} \rho_g + \sqrt{(1 - h^2_1)(1 - h^2_2)} \rho_a$, onde h^2_1 and h^2_2 são as herdabilidades de traço um e do traço dois, respectivamente (SPEICHER *et al.*, 2010).

Adicionalmente, correlações significativas entre pares de fenótipos são indicativos de efeitos pleiotrópicos, ou seja, quando um único gene ou conjunto de genes controla diversas características do fenótipo (ALMASY *et al.*, 1997). Contudo, apesar de diversas doenças crônicas e traços complexos serem observados no mesmo *cluster* familiar (HARDY; SINGLETON, 2009), até o presente momento não são completamente entendidos (MANOLIO *et al.*, 2009). A herdabilidade e a pleiotropia, portanto, podem auxiliar no entendimento da complexa interação dos fatores genéticos e ambientais na etiogênese das mesmas.

Inicialmente, a maioria dos estudos foi realizada em gêmeos e demonstrou a interferência da carga genética nas condições metabólicas de propensão aos fatores de risco cardiometabólicos (GARVEY *et al.*, 2003; GENEST, 2003), demonstrando que a população de alta similaridade genética, possivelmente, possui um potencial de risco mais elevado que as populações mais miscigenadas. Posteriormente, muitos estudos foram realizados, ampliando os desenhos de estudo e tipo de parentesco avaliado.

Figura 1 - Exemplo de heredograma em Virgem das Graças do estudo da área rural, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais



Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

Nota: Família número 12. P: População; F: Família; N: Número do indivíduo.

O heredograma apresenta indivíduos afetados ou não afetados para o fenótipo colesterol total elevado (< 200mg/dL não afetado e ≥ 200 mg/dL afetado).

Nesse sentido, apesar da grande quantidade de estudos genéticos sobre doenças crônicas (ELKS *et al.*, 2012; BLACKETT; SANGHERA, 2013; HEBEBRAND *et al.*, 2013), os desenhos dos estudos e, conseqüentemente, a forma de coleta de dados são diversos. Por exemplo, existem estudos genéticos que comparam os fenótipos entre irmãos gêmeos, irmãos consanguíneos, adotivos, ou ainda avaliam outros níveis de parentesco, como, por exemplo, a relação pai-filho, o que pode modificar o efeito encontrado para a herdabilidade, como superestimá-la, no caso dos estudos com gêmeos (RISCH; TENG, 1998, TANG *et al.*, 2006).

Portanto, por um lado, nem sempre o estudo que estima a herdabilidade o faz em estudos de família, por comparar somente alguns membros relacionados, ou então o faz somente em nível da relação pais-filhos, sendo considerados pedigrees pequenos (ZABANEH *et al.*, 2009).

Além do contexto do tipo de relação parental nos estudos, a maioria faz a coleta dos dados de família a partir de um probando, ou seja, o indivíduo com o fenótipo de interesse é identificado e avaliado, e então sua família é chamada para participar e os dados dos parentes são então coletados. Para compor o grupo comparativo, famílias de indivíduos que não possuem o fenótipo de interesse são selecionadas a fim de compor o grupo controle, resultando em estudos caso-controle baseados em probandos.

Por outro lado, existe o tipo de estudo baseado em famílias completas na população geral, nas quais há maior potencial de verificação do valor “verdadeiro” dos dados genéticos, uma vez que as famílias estão representadas da forma ubíqua.

Adicionalmente, o estudo de pedigrees com grande número de membros tem maiores possibilidades de identificação de variantes raras que tendem a ser mais bem captadas (IONITA-LAZA; OTTMAN, 2011).

Adicionalmente, por causa da elevada prevalência das DCV e fatores cardiometabólicos relacionados, bem como a associação com os fatores de risco ambientais, como uso do tabaco, ingestão excessiva de álcool, dieta não saudável e sedentarismo (HUNTER; REDDY, 2013), estudos têm sido conduzidos para avaliar o nível de herdabilidade e a diferença, muitas vezes, se dá pela diversidade do impacto de cada um desses fatores e pela especificidade de cada população (PILIA *et al.*, 2006, OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Como existem evidências para o aumento dos fatores de risco cardiometabólicos, incluindo dislipidemias e fenótipos relacionados à obesidade, justificam-se os esforços para o conhecimento desses traços (HASSELBALCH *et al.*, 2010, ODEGAARD *et al.*, 2012).

Estudo que avaliou a herdabilidade dos fatores de risco para DCV nas frações lipídicas, pressão arterial e IMC em brasileiros demonstrou que a herdabilidade para DCV é elevada e semelhante a outras populações do mundo (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Entretanto, do nosso conhecimento, não foram encontrados estudos nacionais na área proposta pelo presente estudo que possuam características importantes, como isolamento geográfico e alto nível de parentesco.

Contudo, para melhor visualização da variação da estimativa da herdabilidade, os dados do Quadro 1 (níveis lipídicos) e do quadro 2 (antropometria e níveis pressóricos) sumarizam a variação dos fenótipos investigados dos principais estudos encontrados na literatura.

A maioria dos estudos que investigaram fenótipos cardiometabólicos, como obesidade, pressão arterial, frequência cardíaca elevadas e níveis de lipídeos séricos alterados constataram níveis diversificados na estimativa de herdabilidade (MITCHELL *et al* 1996; HSU *et al.*, 2005; PILIA *et al.*, 2006; NORTH *et al* 2006; BOSY-WESTPHAL *et al* 2007; BASTARRACHEA *et al* 2007; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ *et al.*, 2007b).

A contribuição dos estudos genéticos pode ser observada do ponto de vista da estimativa da herdabilidade, conforme supracitado, como também analisada juntamente com fatores de risco ambientais (PILIA *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2008), existindo grande potencial para identificar possíveis genes interferentes no desenvolvimento de DCV (PILIA *et al.*, 2006). Por outro lado, também pode ser investigado em relação à presença de variantes genéticas (MATTEVI *et al.*, 2002, SHAH, 2007), reforçando a necessidade de diferentes estratégias de análise para maior compreensão dos fatores cardiometabólicos.

Nesse ínterim, é importante investigar a proporção da suscetibilidade às doenças quanto aos fatores genéticos e o entendimento de sua variação, que poderão melhor contribuir para prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças (MANOLIO *et al.*, 2009).

Além da aplicabilidade dos estudos genéticos discutida anteriormente, as áreas rurais avaliadas pelo presente estudo possuem elevada prevalência de doenças crônicas, como obesidade, hipertensão e síndrome metabólica (VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ *et al.*, 2007a; PIMENTA *et al.*, 2008; MENDES *et al.*, 2009). Além disso, essa população possui características específicas, como dificuldade de acesso, sendo mais isoladas geograficamente e compostas por grande número de famílias com alto grau de parentesco entre si, tornando interessante a investigação do nível de contribuição genética dos fatores cardiometabólicos que podem explicar, pelo menos em parte, a elevada prevalência de doenças crônicas encontradas nessa população.

Quadro 1 - Resumo dos principais estudos de família que continham a estimativa de herdabilidade de fenótipos cardiometabólicos relacionados ao nível lipídico

AUTOR (ANO)	POPULAÇÃO	Colesterol total	HDL	LDL	TGL
BASTARRACHEA <i>et al.</i> (2007)	375 indivíduos/ 21 famílias mexicanas <i>GEMM Study Genética de las Enfermedades Metabólicas en México</i>	0,39	-	-	0,23
PILIA <i>et al.</i> (2005)	6148 italianos, Sardenha	0,42	0,48	0,42	0,32
NORTH <i>et al.</i> (2006)	950 participantes/ 35 famílias, <i>The Strong Heart Family Study</i>	0,39	0,50	0,39	0,40
MITCHELL <i>et al.</i> (1996)	1236 participantes <i>The San Antonio Family Heart Study</i>	0,39	0,46	0,40	0,40
OLIVEIRA <i>et al.</i> (2008)	1666 indivíduos/ 81 famílias brasileiras Estudos de famílias de Baependi-MG	-	0,32	-	0,28
BOSY-WESTPHAL <i>et al.</i> (2007)	492 indivíduos/ 90 famílias alemãs <i>Kiel Obesity Prevention Study</i>	-	0,39	-	0,31
FREEMAN <i>et al.</i> (2002)	537 participantes/ 89 pedigrees <i>Community-based study of healthy families</i>	-	0,44	0,33	0,19
ZABANEH <i>et al.</i> (2009)	1634 indivíduos/ 180 famílias Famílias indianas que viviam na Inglaterra		0,53		0,40
CHIEN <i>et al.</i> (2007)	358 participantes/ 1356 membros no pedigree <i>Chin-Shan community family study</i>	0,32	0,29	0,40	0,26
TANG <i>et al.</i> (2006)	190 participantes/ 445 famílias norte-americanas <i>National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Family Heart Study</i>	-	0,63	-	0,48
McQUEEN <i>et al.</i> (2005)	1617 participantes/ <i>Framingham Heart Study</i>	-	0,62	-	0,56
VATTIKUTI <i>et al.</i> (2012)	8451 participantes <i>Atherosclerosis Risk in Communities Study</i>		0,48		0,47
LIN <i>et al.</i> (2005)	803 participantes/ 89 famílias hispano-caribenhas <i>Northern Manhattan Family Study</i>		0,60		0,47

Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

Nota: HDL-Lipoproteína de densidade muito alta; LDL-Lipoproteína de densidade baixa; TGL: Triglicerídeos. Foram consideradas as herdabilidades dos modelos não ajustados quando estavam disponíveis.

Quadro 2- Resumo dos principais estudos de família que continham a estimativa de herdabilidade de fenótipos cardiometabólicos relacionados aos fatores antropométricos e níveis pressóricos

AUTOR (ANO)	POPULAÇÃO	CA	PAS	PAD	HAS	IMC
ADEYEMO <i>et al.</i> (2002)	1825 participantes em 528 pedigrees	-	0,31	0,25	-	-
BASTARRACHEA <i>et al.</i> (2007)	375 participantes / 21 famílias mexicanas <i>GEMM Study Genética de las Enfermedades Metabólicas en México</i>	0,33	0,46	0,29	-	0,36
BIINO <i>et al.</i> (2013)	9845 famílias italianas (\geq 18 anos)	-	0,36	0,27	-	-
BOCHUD <i>et al.</i> (2005)	314 participantes/ 76 pedigrees	-	0,37	0,24	-	-
BOSY-WESTPHAL <i>et al.</i> (2007)	492 indivíduos / 90 famílias alemãs	0,54	0,18	0,27	-	-
CHIEN <i>et al.</i> (2007)	358 participantes / 1356 membros no pedigree	0,17	0,32	0,23	-	0,21
OLIVEIRA <i>et al.</i> (2008)	1666 participantes/ 81 famílias brasileiras	0,40	0,25	0,26	0,32	0,51
FREEMAN <i>et al.</i> (2002)	537 participantes / 89 pedigrees	-	0,19	-	-	0,37
LIN <i>et al.</i> (2005)	803 participantes/ 89 famílias hispano-caribenhas	0,46	0,16	0,21	0,30	-
McQUEEN <i>et al.</i> (2005)	1617 participantes <i>Framingham Heart Study</i>	-	0,48	-	-	0,51
NORTH <i>et al.</i> (2006)	950 participantes, 32 pedigrees <i>The Strong Heart Family Study</i>	-	0,23	0,34	-	0,44
TANG <i>et al.</i> (2006)	190 participantes, 445 famílias	0,42	0,34	0,33	-	0,46
VATTIKUTI <i>et al.</i> (2012)	8451 participantes, <i>Framingham Heart Study</i>	-	0,30	-	-	0,34
ZABANEH <i>et al.</i> (2009)	1634 indivíduos/ 180 famílias Famílias indianas que viviam na Inglaterra	-	0,29	-	-	0,31

Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

Nota: CA: Circunferência abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; HAS: Hipertensão (sim/não). IMC: Índice de Massa Corporal. Foram consideradas as herdabilidades dos modelos não ajustados quando estavam disponíveis.

1.2.2 Fatores Cardiometabólicos, Leptina e Polimorfismo do Receptor de Leptina Gln223Arg

Se, por um lado, a estimativa da herdabilidade é um primeiro passo para o direcionamento de estudos genéticos; por outro, a identificação de variantes genéticas, tais como as análises de polimorfismos, pode permitir ou aprofundar os conhecimentos sobre potenciais associações com fenótipos cardiometabólicos em contextos ambientais e estilos de vida diferenciados.

Polimorfismo genético, por sua vez, é a variação genotípica com frequência maior ou igual a 1% na população. Polimorfismos de um único nucleotídeo, como o polimorfismo do LEPR Gln223Arg, são substituições nas quais há troca de uma base na sequência do DNA, acarretando modificações na estrutura da proteína expressa pelo gene polimórfico, influenciando no seu potencial enzimático, de ligação, ou qualquer outro nível de alteração metabólica (SPEICHER *et al.*, 2010).

A leptina é um hormônio (adipocina) secretado primariamente pelo tecido adiposo, mas expressa também em menor proporção por uma variedade de tecidos, como placenta, ovários, epitélio mamário e medula óssea (MARGETIC *et al.*, 2002), tendo o hipotálamo e as células alfa e beta do pâncreas como tecidos-alvo.

Essa adipocina circula em pequenas quantidades em sua forma livre e em maior quantidade ligada a pequenas proteínas específicas que têm uma importante função no transporte da leptina pela barreira hematoencefálica (HILEMAN *et al.*, 2002).

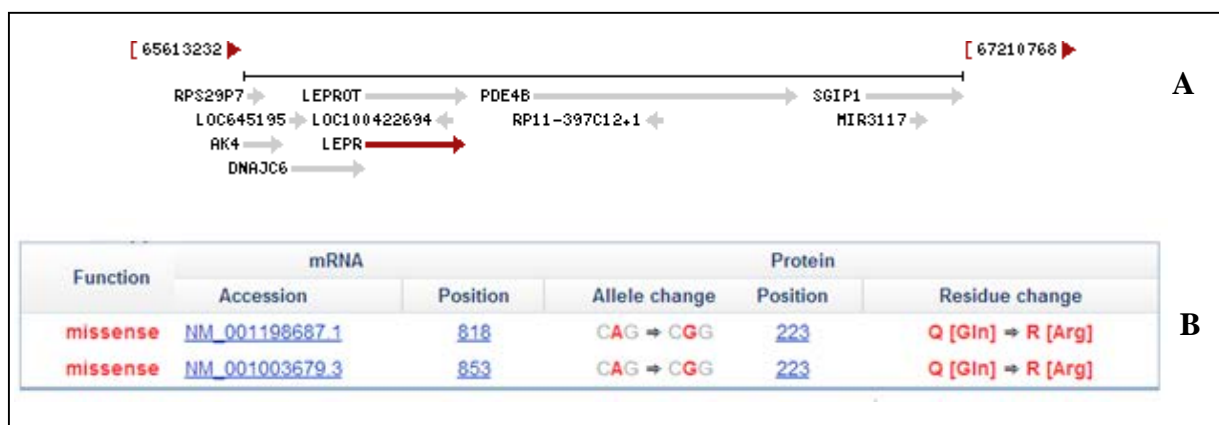
O mecanismo de sinalização da leptina é considerado um dos mais importantes na regulação da homeostase de energia no metabolismo humano (TRITOS; MANTZOROS, 1997), relacionando, portanto, os polimorfismos do gene da leptina com a regulação do peso corporal, obesidade, distribuição da massa gorda, nível de leptina sérica, homeostase da glicose, diabetes, entre outros (CHAGNON *et al.*, 1999; CHAGNON *et al.*, 2000, ROSMOND *et al.*, 2000; QUINTON *et al.*, 2001; WAUTERS *et al.*, 2001a; YIANNAKOURIS *et al.*, 2001; MATTEVI *et al.*, 2002; LAKKA *et al.*, 2004).

O gene do receptor de leptina é expresso no cromossomo 1p31, sendo o polimorfismo do LEPR Gln223Arg uma substituição de adenina por uma guanina em nível do DNA, no qual gera uma modificação de glutamina para uma arginina na estrutura proteica, conforme visualizado na Figura 2.

Essa substituição de glutamina para arginina acarreta modificações tridimensionais na proteína, pois se localiza na região de codificação do domínio extracelular do receptor de leptina (QUINTON *et al.*, 2001). Portanto, o polimorfismo tem potencial para modificar a sua atividade biológica (ZHANG *et al.*, 1997).

De forma simplificada, em situações normais, a leptina é secretada, chega aos receptores em nível hipotalâmico, liga-se a eles e ativa as vias de sinalização, o que resultará em menor ingestão alimentar, maior saciedade (HILEMAN *et al.*, 2002), ativação do crescimento celular, da imunidade e da sensibilidade à insulina, aumentando também o gasto energético total (BATES; MYERS, 2003).

Figura 2 – Representação do gene do receptor da leptina e polimorfismo Gln223Arg mostrando a troca de bases e de aminoácidos nas respectivas posições



Fonte: A) Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3953>>;

B) Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.rs=1137101>.

Nota: A) O gene do receptor da leptina LEPR está representado em vermelho. As outras letras correspondem aos outros genes no cromossomo 1. B) Polimorfismo LEPR Gln223Arg que mostra em vermelho à direita a substituição das bases de A para G como também a substituição final dos aminoácidos glutamina por arginina.

Nos indivíduos portadores das variantes do polimorfismo LEPR Gln223Arg, a ligação da leptina pode ser afetada diminuindo o potencial de ação celular de forma que a expressão de genes orexígenos é ativada, aumentando a ingestão alimentar e, conseqüentemente, a lipogênese, contribuindo para o aumento da resistência à insulina, obesidade, hipertrofia ventricular e outros fenótipos cardiometabólicos, como pode ser observado na Figura 3 (AHIMA *et al.*, 1996; SADER *et al.*, 2003; LAKKA *et al.*, 2004; SALOPURO *et al.*, 2005; DUARTE *et al.*, 2007; MANTZOROS *et al.*, 2011; JACKSON *et al.*, 2012; BECER *et al.*, 2013).

Portanto, as variantes do gene que codifica o receptor da leptina podem interferir no metabolismo do hormônio, afetando em determinado grau a função biológica e os níveis séricos de leptina (ROSMOND *et al.*, 2000; WAUTERS *et al.*, 2001a; MATTEVI *et al.*, 2002). Nesse sentido, especificamente o polimorfismo do gene LEPR Gln223Arg tem sido apontado como um dos fatores de predisposição genética ao excesso de peso e outros eventos cardiometabólicos (CHAGNON *et al.*, 1999; CHAGNON *et al.*, 2000; QUINTON *et al.*, 2001; WAUTERS *et al.*, 2001a; YIANNAKOURIS *et al.*, 2001).

Conforme discutido na primeira seção, a obesidade é um fenótipo multifatorial, constituindo-se um problema de saúde pública mundial e causa principal de muitas doenças crônicas no mundo, além de ser um evento crescente (WAGENKNECHT *et al.*, 2003; GIGANTE *et al.*, 2011; WHO, 2013a).

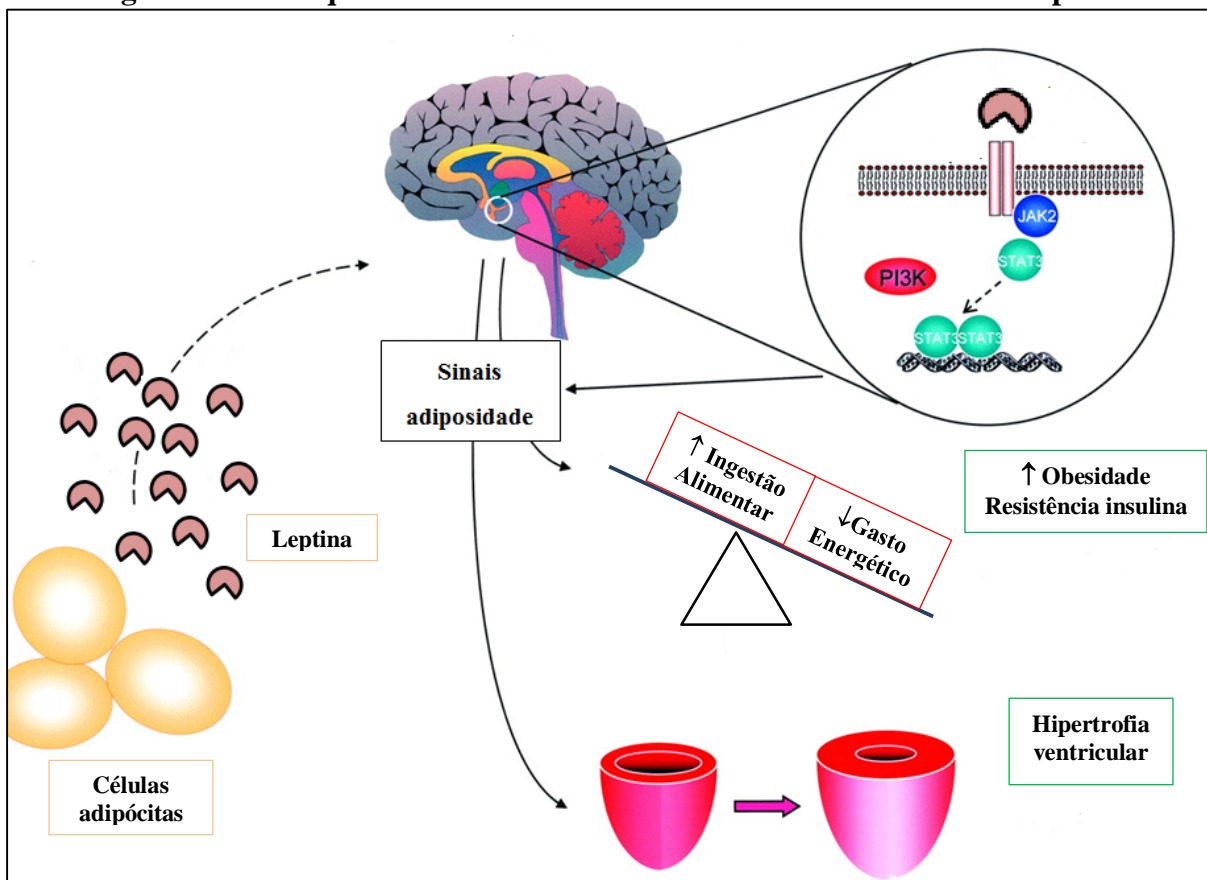
Quanto a Montes Claros, em 2008 a população adulta da região urbana apresentava elevada prevalência de sobrepeso e obesidade, de 32,6% e 18,2%, respectivamente, sendo associada a pior qualidade de vida (CAMPOS; NETO, 2009).

Para melhor exemplificar os possíveis fatores intervenientes entre genótipo e fatores cardiometabólicos e como podem ser complexas essas relações (Figura 4), a variação genética influencia a preferência alimentar, apetite e saciedade, impactando na composição da dieta. Uma vez consumida, algum componente em particular é absorvido e metabolizado para os tecidos, gerando impacto na regulação gênica. Posteriormente, a influência das concentrações teciduais dos componentes da dieta é novamente impactada pelo genótipo como, por exemplo, influenciando a variabilidade de mecanismos de sinalização. Além desses possíveis fatores, há uma complexidade adicional no fato de que a influência do genótipo na homeostase metabólica e bioatividade dos componentes dietéticos não é homogêneo (MINIHANE, 2013).

Em suma, a influência do genótipo no fenótipo não é homogêneo e pode ser mais ou menos pronunciado, dependendo de características individuais, como estado nutricional, dieta e outros fatores ambientais (MANOLIO *et al.*, 2009).

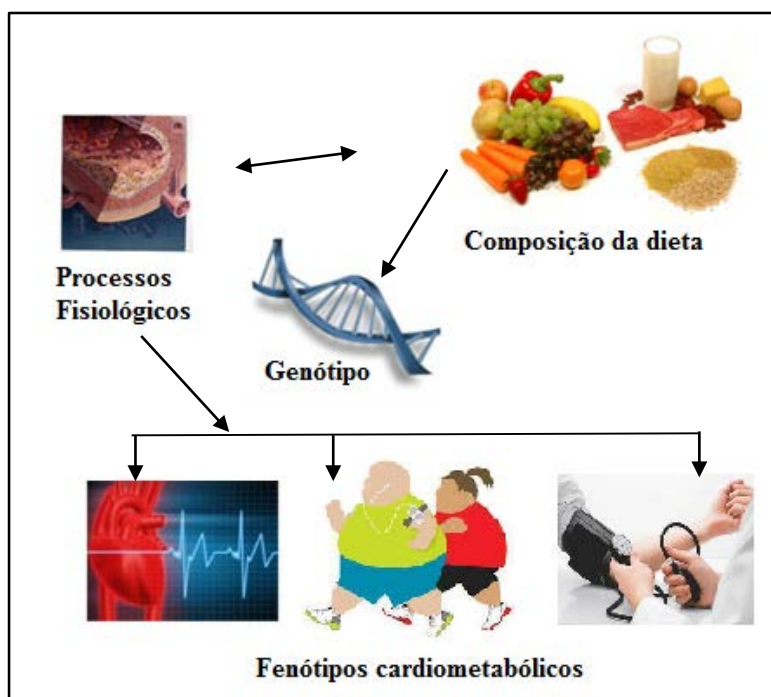
Um dos possíveis efeitos genéticos pode ser observado por meio da genotipagem, pois muitas variações estáveis no genoma ocorrem na forma de SNP e são responsáveis por 90% das variações genéticas comuns (DORIS, 2002), abundantemente encontradas no genoma, interferindo no metabolismo, na resposta a medicamentos, e, conseqüentemente, no risco de desenvolvimento de doenças e terapêutica instituída.

Figura 3 - Consequências metabólicas da deficiência ou resistência à leptina



Fonte: Adaptado de SADER *et al.* (2003). Tradução nossa.

Figura 4 - Possíveis fatores intervenientes entre genótipo e fatores cardiometabólicos



Fonte: Adaptado de MINIHANE, 2013.

Ainda, essas variações no genoma são muito exploradas na literatura, e o polimorfismo LEPR Gln223Arg é muitas vezes relacionado aos desfechos cardiometabólicos, como sobrepeso e obesidade, sendo os resultados ainda controversos (BIENERTOVA-VASKU *et al.*, 2010; HUUSKONEN *et al.*, 2010; MURUGESAN *et al.*, 2010; SILVA, 2010; ANGELI *et al.*, 2011; LABAYEN *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011; BECER *et al.*, 2013). Muitas vezes, esses achados se diferenciam, dependendo da população e do desfecho avaliado, conforme pode ser observado no Quadro 3.

Contudo, até a presente data não foram encontrados estudos do nosso conhecimento em população brasileira que tenham determinado a amostragem a partir da prevalência do polimorfismo LEPR Gln223Arg com fenótipos cardiometabólicos com estimativas da sua associação com a obesidade e a outros fatores de risco cardiometabólicos em estudo de base populacional. Tomados juntos, há um potencial para a investigação das associações entre os indicadores de excesso de peso com o polimorfismo LEPR Gln223Arg.

Quadro 3 - Resumo dos principais estudos que avaliaram a associação do receptor de leptina Gln223Arg com fenótipos de excesso de peso em adultos

AUTOR (ANO)	TIPO DE ESTUDO	POPULAÇÃO N / Etnia ou local	Frequência LEPR Gln223Arg (%)	Desfecho	Associação	
WANG <i>et al.</i> (2006)	Caso-controle	615 / aborígenes Tailandeses	Obesos AA – 83,3 AG – 16,7 GG – 0,0	Não obesos AA – 87,9 AG – 12,1 GG – 0,0	Obesidade	NS
MATSUOKA <i>et al.</i> (1997)	Caso-controle	115/ Japonesa	Obesos A - 12,8 G - 87,2	Nao obesos A - 16,2 G - 83,8	Obesidade	NS
VAN DER VLEUTEN <i>et al.</i> (2006)	Caso-controle	644 / Holanda	HFC AA - 26,0 AG+GG -64,2	Sem HFC AA - 35,8 AG+GG- 74,0	Obesidade Resistência insulina	NS NS
PEREIRA <i>et al.</i> (2011)	Caso-controle	4193/ Japonesa	AA ~ 1,9 AG ~ 23,1 GG ~ 75,0		Sobrepeso	NS
SILVA (2010)	Intervenção	216 Mulheres obesas / São Paulo	AA - 27,4 AG - 53,0 GG – 17,9		Composição corporal, variáveis clínicas	NS
WAUTERS <i>et al.</i> (2001)	Transversal	220/ Caucasianas obesas/ Bélgica	AA – 27,0 AG – 50,0 GG – 21,0		IMC CA MG	NS NS NS

(Continua)

(Conclusão)

AUTOR (ANO)	TIPO DE ESTUDO	POPULAÇÃO N / Etnia ou local	Frequência LEPR Gln223Arg (%)	Desfecho	Associação	
ANGELI <i>et al.</i> (2011)	Transversal	375 /quilombolas/ São Paulo e caucasianos/ Porto Alegre	Não sobrepeso GG - 14 AG - 46 AA - 40	Sobrepeso GG - 12 AG - 51 AA - 37	Sobrepeso	NS
DUARTE <i>et al.</i> (2007)	Caso-controle	200 obesos / Rio de Janeiro	Não sobrepeso AA - 15,0 AG - 47,0 GG - 38,0	Sobrepeso AA - 14,0 AG - 60,0 GG - 26,0	Sobrepeso	S / AG+GG
QUINTON <i>et al.</i> (2001)	Transversal	220/ Reino Unido	AA - 31,4 AG - 48,8 GG - 17,1	IMC MG	S / AA+AG S / AA+AG	
MATTEVI <i>et al.</i> (2002)	Transversal	336 / Porto Alegre	Não sobrepeso AA - 8,0 AG - 53,0 GG - 39,0	Sobrepeso AA - 19,0 AG - 53,0 GG - 8,0	Sobrepeso CA	S / GG S /GG
YIANNAKOURIS <i>et al.</i> (2001)	Transversal	120/ Grécia	AA - 44,0 AG - 47,5 GG - 8,5	Sobrepeso IMC	S/ AA S/ GG	
CHAGNON <i>et al.</i> (2000)	Transversal <i>Heritage Family Study</i>	841/ Diversas Homens canadenses	Caucasianos AA - 32,0 AG - 45,0 GG - 23,0	Negros AA - 23,0 AG - 51,0 GG - 26,0	IMC MG	S/ Caucasianos S/ Caucasianos

Fonte: Desenvolvido para fins deste estudo.

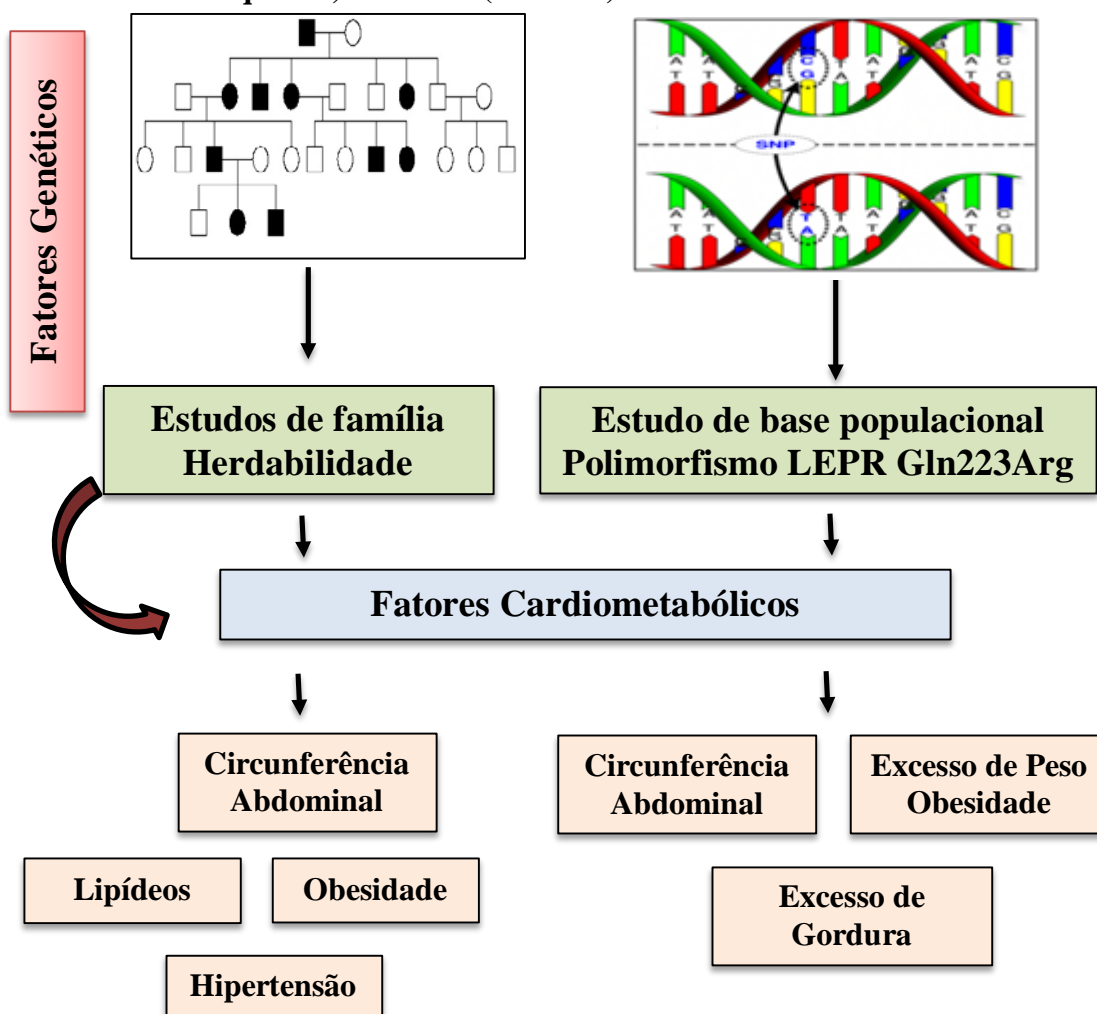
Nota: CA: Circunferência abdominal; IMC: Índice de Massa Corporal; MG: Massa Gorda. HFC: Hipercolesterolemia familiar combinada.S: associação significativa; NS: não significativa seguido do genótipo considerado de risco.

1.3 Apresentação dos Estudos

O presente estudo apoiou-se na hipótese de que existe variação genética na expressão dos fenótipos cardiometabólicos, baseando-se em duas estratégias diferentes de análise conforme esquematizado na Figura 5.

Assim, a análise genética de fenótipos em população rural sob o ponto de vista da herdabilidade e em população urbana, por meio da análise de polimorfismo genético do receptor da leptina, se justifica a fim de abranger diferentes estratégias de análise da associação desses fenótipos sobre diferentes contextos geográficos e socioeconômicos em população que possui elevada prevalência de fenótipos cardiometabólicos.

Figura 5 – Esquema proposto para variáveis potencialmente associadas à ocorrência de desfechos relacionados aos fatores cardiometabólicos complexos em área rural (à esquerda) e urbana (à direita) em Minas Gerais.



Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

Nota: LEPR Gln223Arg: Polimorfismo do receptor de Leptina Gln223Arg

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a contribuição genética para a distribuição dos fenótipos cardiometabólicos utilizando diferentes estratégias de análise genética em populações adultas residentes em Minas Gerais.

2.2 Objetivos Específicos

- Estimar a herdabilidade, correlações genéticas e ambientais dos fenótipos antropométricos (índice de massa corporal, circunferência abdominal e níveis de lipídeos séricos) e bioquímicos (níveis de LDL, HDL, VLDL e colesterol total) na população rural de comunidades no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.
- Estimar a prevalência do polimorfismo do receptor da leptina Gln223Arg e suas possíveis associações com fatores cardiometabólicos como os indicadores de excesso de peso (sobrepeso, obesidade, circunferência abdominal e percentual de gordura) na população adulta de Montes Claros, Minas Gerais.

3 MÉTODOS

A presente seção será descrita em duas etapas conforme as diferentes áreas estudadas (rural e urbana).

3.1 Estudo em Área Rural

3.1.1 Delineamento e Área do Estudo

Foi realizado estudo observacional, de delineamento transversal e analítico em áreas rurais pertencentes ao Vale do Jequitinhonha, MG. Foram avaliados moradores de três localidades, sendo Virgem das Graças pertencente ao município de Ponto dos Volantes, enquanto Caju e São Pedro do Jequitinhonha pertencem ao município de Jequitinhonha, conforme demonstrado na Figura 6.

A distância entre as cidades de Belo Horizonte e Ponto dos Volantes é de aproximadamente 650 km, e de Belo Horizonte a Jequitinhonha é de 685 km. Em Ponto dos Volantes, a população total estimada é de 11.345, sendo 7.314 (64,47%) habitantes em área rural (IBGE, 2010b). Essa área mantém o índice de desenvolvimento humano de 0,595, um dos menores do estado (PNUD, 2010), além de elevada taxa de analfabetismo, baixa qualidade da água e serviços de saúde precários.

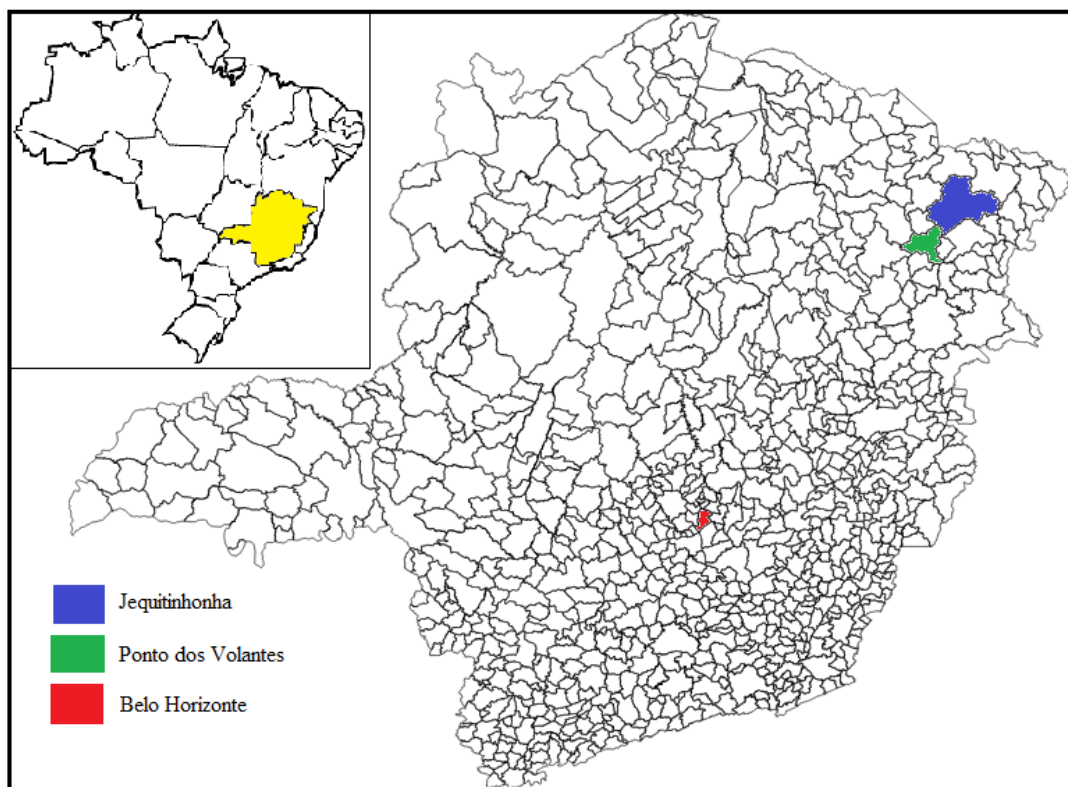
O local ainda possui construções de tijolo de barro; muitas residências não têm esgoto encanado assim como água encanada (somente de nascentes). Utilizam córregos para suas atividades diárias, como lavar vasilhames e roupas, sendo uma importante área endêmica de esquistossomose (GAZZINELLI *et al.*, 2008). Por fim, as principais atividades econômicas da região são comércio, pecuária de corte, agricultura de subsistência, como a plantação de mandioca, milho, feijão, arroz, além da fruticultura, dando ênfase, principalmente, ao plantio de banana.

Por outro lado, Jequitinhonha pode ser considerada uma cidade com melhor infraestrutura que Ponto dos Volantes, com menor percentual da população em área rural: 17.061 (29,3%) pessoas (IBGE, 2010b).

Mesmo assim, essa área enfrenta problemas sociais e econômicos semelhante aos de Ponto dos Volantes, como elevada taxa de analfabetismo, falta de instalações sanitárias nas residências, falta de rede de esgoto ou de água canalizada. O índice de desenvolvimento humano é 0,615, também considerado baixo (PNUD, 2010).

Essa população vive principalmente da agricultura de subsistência, envolvendo o cultivo de alimentos básicos, como milho e mandioca, criação de gado ou, ainda, benefícios do governo através de pagamentos e transferência de recursos do programa de governo "Bolsa Família", mantendo situação econômica precária. Portanto, ambas as regiões apresentam limitações socioeconômicas e inseridas no mesmo contexto ambiental (GAZZINELLI *et al.*, 2006, REIS *et al.*, 2010, PIMENTA *et al.*, 2011).

Figura 6 - Mapa de Minas Gerais mostrando a capital Belo Horizonte e as cidades Ponto dos Volantes e Jequitinhonha, as quais pertencem a Virgem das Graças, Caju e São Pedro do Jequitinhonha, respectivamente



Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

3.1.2 População Acessível

O presente trabalho faz parte de um grande projeto iniciado em Virgem das Graças em 2001, Caju em 2004 e São Pedro do Jequitinhonha em 2007, com várias linhas de base.

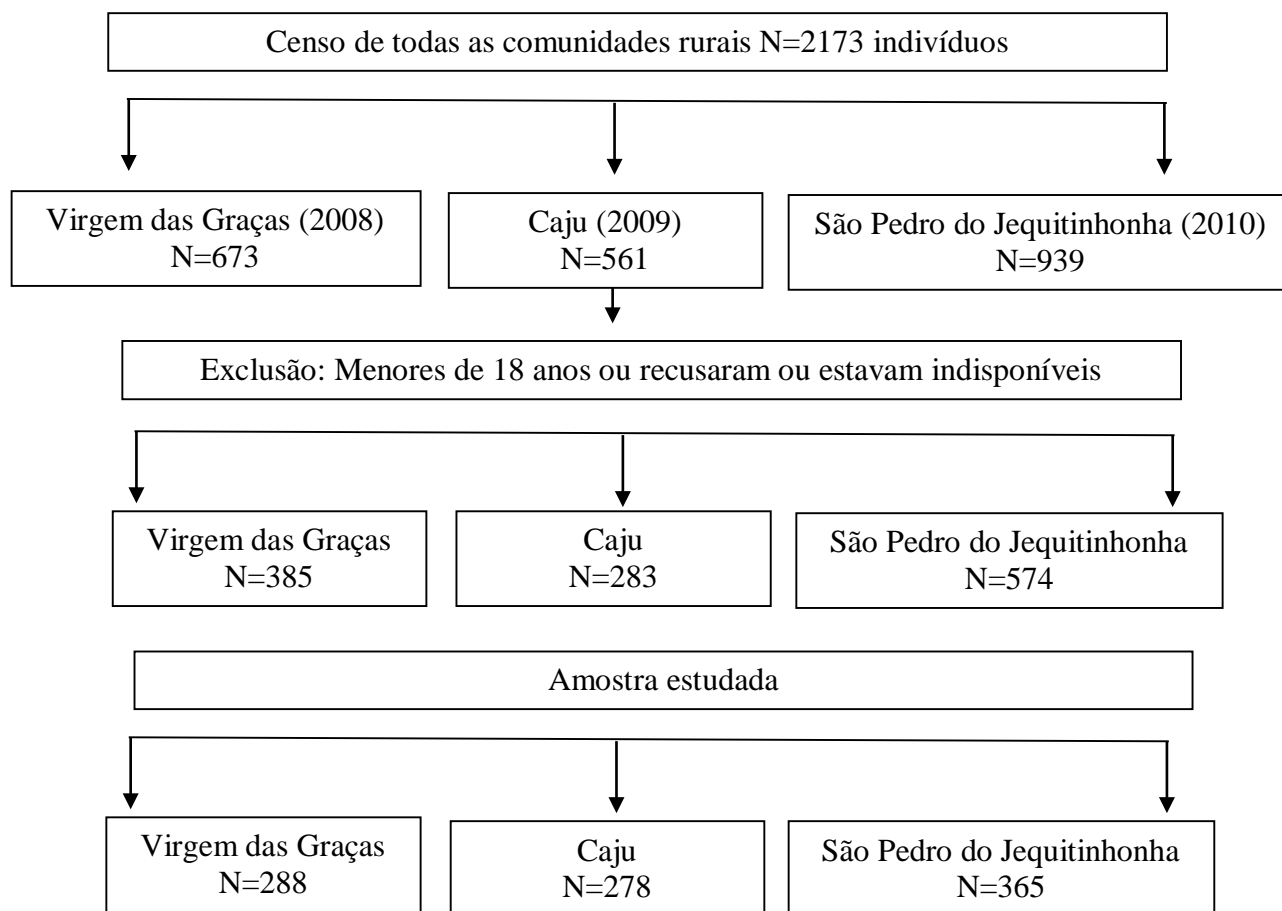
Inicialmente foi feita uma triagem objetivando realizar o censo de todas as comunidades rurais tendo sido coletados os dados familiares para a elaboração dos pedigrees. Devido às diversas coletas ao longo do tempo, foram utilizados os dados mais recentes de 2008, 2009 e 2010 de Virgem das Graças, Caju e São Pedro do Jequitinhonha, respectivamente.

Assim foram realizadas as avaliações considerando cada local, sendo: 673 indivíduos em Virgem das Graças, 561 em Caju e 939 em São Pedro do Jequitinhonha, totalizando 2173 indivíduos na linha de base. Como o presente estudo objetiva a avaliação dos maiores de 18 anos, foram excluídos 385 em Virgem das Graças, 283 em Caju e 574 em São Pedro do Jequitinhonha, sendo a população estudada de 374 indivíduos em Virgem das Graças, 365 em Caju e 564 em São Pedro do Jequitinhonha, totalizando 1.242 indivíduos (Figura 7). Entretanto, como nem todos os indivíduos aceitaram participar do estudo ou estavam na localidade na época da coleta de dados, a amostra fenotipada foi composta por 931 indivíduos (288 em Virgem das Graças, 278 em Caju e 365 em São Pedro do Jequitinhonha). Portanto, a amostra correspondeu a 71,45% da amostra adulta total acessível nessas áreas.

3.1.3 Questões Éticas

Este estudo faz parte de um projeto mais abrangente denominado “Fatores de risco cardiovasculares, doenças crônicas e herdabilidade em área rural de Minas Gerais” que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), segundo parecer n. ETIC 144/04 (ANEXO A). O estudo está em acordo com os princípios éticos de não maleficência, beneficência, justiça e autonomia contidos na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996). Todos os participantes foram informados sobre o objetivo da pesquisa e seus direitos como participantes e solicitados, caso concordassem, a assinar um termo de consentimento livre e esclarecido.

Figura 7 – Fluxograma da população de estudo em área rural, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais



Fonte: Elaborados para fins deste estudo.

3.1.4 Procedimentos para Coleta de Dados

Os dados utilizados no presente estudo foram coletados nos períodos de abril e julho de 2008 e 2009 em Caju e Virgem das Graças, respectivamente, e julho de 2010 em São Pedro do Jequitinhonha. Foram utilizadas variáveis socioeconômicas, demográficas, clínicas e antropométricas, bem como sobre estilo de vida por meio de questionário face a face (ANEXO B). Ainda, foi realizada avaliação clínica de níveis pressóricos e de medidas antropométricas.

Para maior precisão das aferições, os entrevistadores foram treinados e supervisionados em campo durante uma semana para aplicação do questionário, aferições antropométricas e de níveis pressóricos. Em um segundo momento, as medidas foram replicadas em dias diferentes em 10 voluntários, visando à padronização da entrevista e avaliação do instrumento de coleta de dados.

Todas as medidas antropométricas e clínicas foram aferidas três vezes de acordo com recomendações padronizadas (LOHMAN *et al.*, 1988), sendo utilizada a média de todas as medidas.

3.1.4.1 Variáveis Demográficas e Socioeconômicas

- **Idade**

A idade foi obtida a partir da data de nascimento registrada na carteira de identidade em anos e devidamente anotada.

- **Raça/ Cor da pele**

O entrevistador classificou a cor da pele das pessoas em: branca; parda/ mulata / morena / cabocla; negra; indígena; amarela / oriental. As categorias parda / mulata / morena / cabocla e negra foram agrupadas como não brancos.

- **Estado conjugal**

O entrevistador verificou o estado civil dos sujeitos com base nas seguintes categorias: casado; em união; solteiro; separado / divorciado; viúvo. Posteriormente, a variável estado conjugal foi criada e contemplava duas classes: com cônjuge (pessoas casadas ou em união) e sem cônjuge (indivíduos solteiros, separados /divorciados e viúvos).

- **Escolaridade**

O entrevistador questionou o último ano e a série de estudo formal que o participante completou. Posteriormente, o entrevistador transformou a informação em anos de estudo. Essa variável foi categorizada em analfabeto, 1 a 4 anos, 5 a 8 anos e maior ou igual a 9 anos.

3.1.4.2 Medidas Antropométricas

- **Peso**

O peso foi aferido por meio de uma balança digital previamente calibrada (Modelo PL 150, Filizola Ltda[®], São Paulo, SP) com aproximação de 0,1 kg, estando os participantes no centro da plataforma da balança, em posição anatômica, com vestimentas leves e sem sapatos.

- **Altura**

A altura foi mensurada com uma fita métrica inextensível TBW[®] (São Paulo, SP), precisão de 1mm, a qual foi fixada em uma parede sem rodapé a uma distância de 50,0 cm do chão. Os indivíduos, sem sapatos, eram posicionados de pé e de costas para a fita métrica, com os pés paralelos e tornozelos juntos. A região glútea, ombros e a parte posterior da cabeça tocavam a parede e os braços permaneciam soltos ao longo do corpo e cabeça no plano de Frankfurt. A leitura se dava com a utilização do esquadro na parte superior da cabeça na expiração natural com aproximação de 0,1 cm.

- **Índice de Massa Corporal**

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado de acordo com a fórmula: $IMC = \text{peso (Kg)} / \text{estatura}^2 \text{ (m)}$ e classificado conforme os pontos de corte estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde, sendo: $< 18,5 \text{Kg/m}^2$ baixo peso, $18,5$ a $24,9 \text{Kg/m}^2$ eutrófico, 25 a $29,9 \text{Kg/m}^2$ sobrepeso e $\geq 30 \text{Kg/m}^2$ obesidade (WHO, 1995).

- **Circunferência abdominal e obesidade abdominal**

Para a aferição da circunferência abdominal (CA), o participante permaneceu em pé com o abdome relaxado e desnudo, braços soltos e pés juntos. A fita métrica inelástica TBW[®] (São Paulo, SP), precisão de 1mm, foi posicionada no ponto médio entre a última costela e a parte superior da crista ilíaca. Aferiu-se a medida no final de uma expiração normal até o milímetro mais próximo. No caso de pacientes no qual não era possível a aferição do ponto médio, convencionou-se no local de maior constância da medida após o último rebordo costal (WHO, 2000; WHO, 2008). A CA foi categorizada de acordo com os seguintes pontos de corte: sem obesidade abdominal (< 88 cm para mulheres e < 102 cm para homens) e ≥ 88 cm para mulheres e ≥ 102 cm para homens, com obesidade abdominal (WHO, 2000; WHO, 2011).

3.1.4.3 Variáveis Clínicas e Hábitos de Vida

- **Pressão Arterial**

A pressão arterial foi definida pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial e pelo *Joint National Committee* (CHOBANIAN *et al.*, 2003; SBC, 2010).

Na sala de espera da Unidade Básica de Saúde, o paciente permaneceu sentado por pelo menos 10 minutos. Foi então realizada a aferição da pressão com esfigmomanômetro de mercúrio devidamente testado e calibrado, com o braço apoiado na altura do precórdio. Para os indivíduos com circunferência braquial maior que 32 cm, foi utilizada braçadeira apropriada para obesos.

- **Hipertensão arterial sistêmica**

Foram considerados hipertensos os indivíduos com pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg e/ou em uso de medicação anti-hipertensiva autorrelatada no momento da entrevista (CHOBANIAN *et al.*, 2003; SBC, 2010).

- **Atividade física**

O nível de atividade física foi avaliado mediante aplicação do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) na versão longa. O IPAQ é um questionário proposto pela Organização Mundial de Saúde para avaliação da atividade física em nível mundial e validado no Brasil (MATSUDO *et al.*, 2001).

Esse instrumento contempla os níveis de atividade física nos domínios do trabalho, das atividades domésticas, do lazer e deslocamento referidos a uma semana habitual. Essa intensidade da atividade física pode ser discriminada por meio da distinção entre caminhada, outras atividades físicas moderadas e atividades físicas vigorosas (CRAIG *et al.*, 2003).

Atividades moderadas são consideradas aquelas que promovem um pequeno aumento da frequência respiratória e um esforço físico moderado; atividades vigorosas são aquelas que fazem com que o indivíduo respire bem mais rápido que o normal e dispenda um grande esforço físico. O cálculo da atividade física medido pelo Questionário Internacional de Atividade Física foi realizado para cada domínio e para atividade física total (soma dos quatro domínios), segundo as seguintes fórmulas:

- Atividades realizadas no trabalho = tempo de caminhada + (tempo de atividades vigorosas x 2) + tempo de outras atividades físicas moderadas (min./semana).
- Atividades domésticas = tempo de atividades físicas moderadas no quintal/roça + (tempo de atividades vigorosas no quintal/roça x 2) + tempo de atividades físicas moderadas dentro de casa (min./semana).

- Atividades de lazer = tempo de caminhada + (tempo de atividades vigorosas x 2) + tempo de outras atividades físicas moderadas (min./semana)*.
- Atividades de deslocamento = tempo de uso da bicicleta + tempo de caminhada (min./semana).

Atividade Física Total = Tempo de atividade física de trabalho + tempo de atividade física doméstica + tempo de atividade física de lazer + tempo de atividade física de deslocamento (min./sem). O participante foi considerado ativo quando praticava 150 minutos ou mais de atividade física semanal (HEALTH AND HUMAN SERVICE/HHS, 2008).

- **Tabagismo e consumo de bebidas alcoólicas**

O tabagismo foi avaliado quanto ao consumo atual ou progresso, de forma que participantes que relataram uso de pelo menos 100 cigarros ao longo da vida foram considerados tabagistas. Os participantes foram categorizados em tabagismo atual, ex-tabagista e não fumantes. O consumo de álcool foi definido por meio da pergunta “*O(A) Sr(a) costuma ingerir bebida alcoólica?*” (sim/não) bem como a frequência e o número das doses aproximada (autorrelato).

3.1.4.4 Variáveis Bioquímicas

- **Glicemia, colesterol total e frações**

Quanto às variáveis bioquímicas, amostras de sangue (soro e plasma) foram coletadas dos participantes após jejum de 8 a 12 horas. Para determinar as concentrações de colesterol total (CT), triglicerídeos (TGL) e glicose, usaram-se métodos enzimáticos colorimétricos e o analisador Roche Cobas Mira Plus[®] (Roche Diagnostics, Basel, Suíça). A concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) também foi determinada por ensaio enzimático-colorimétrico, após precipitação da lipoproteína de baixa densidade (LDL). Os níveis de LDL foram calculados segundo a equação de Friedewald: $LDL = CT - (HDL + TGL/5)$.

A dislipidemia e hiperglicemia foram classificadas de acordo com IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: consenso brasileiro (SPOSITO *et al.*, 2007).

- **Diabetes Mellitus**

Foi considerado diabético o indivíduo que apresentou glicemia de jejum acima ou igual a 126 mg/dL (SBD, 2006) ou que relatou diagnóstico prévio ou em uso de medicação como insulina ou, ainda, medicação hipoglicemiante.

3.1.4.5 Determinação Genealógica e Construção dos Pedigrees

Todos os indivíduos que residiam na área rural foram indiscriminadamente convidados a participar do estudo, e, a partir do censo realizado nas áreas, foram observadas no total 673 pessoas em Virgem das Graças, 561 em Caju e 939 em São Pedro do Jequitinhonha, totalizando 2173 moradores nas comunidades rurais. Os menores de 18 anos ou que não aceitaram participar do estudo foram excluídos, sendo 385 em Virgem das Graças, 283 em Caju e 375 em São Pedro do Jequitinhonha. Portanto, a população elegível foi de 931 indivíduos (Figura 7).

Para a coleta dos dados familiares, cada casa foi identificada por um único número, e todos os moradores em cada domicílio receberam um número pessoal de identificação seguindo a técnica de coleta de dados (WILLIAMS-BLANGERO; BLANGERO, 2006). A data de nascimento, o sexo e o nome dos parentes de cada participante foram avaliados. Essas informações foram utilizadas na construção dos pedigrees. Para tal, os dados genealógicos foram inseridos em um sistema de gestão baseado em dados de pedigree (PEDSYS). Esse sistema permitiu a reconstrução dos pedigrees e determinação do tamanho e a correção dos possíveis erros (DYKE, 1992).

Por fim, dois programas foram usados com o PEDSYS, o COUNTPED, para identificar as ligações genealógicas no arquivo para atribuir um número a cada indivíduo correspondente ao pedigree ao qual pertence, e o PEDTRIM, para simplificar o pedigree através da correção e verificação dos indivíduos não informativos.

3.1.4.6 Confirmação Genética dos Pedigrees

Para confirmação genealógica dos dados informados nas entrevistas, foi realizada validação por genotipagem de marcadores de microssatélites altamente informativos. Em um trabalho anteriormente realizado, os pedigrees foram validados e confirmaram geneticamente suas relações parentais com os dados informados na coleta de dados (DUTRA *et al.*, 2012).

3.1.5 Processamento de Dados e Análise Estatística

Uma vez que os bancos (de pedigrees e de fenótipos) estavam confirmados e corrigidos para cada comunidade, o próximo passo foi a junção dos mesmos utilizando o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 15.0, por meio de um código único referido ao local, família e identificação do indivíduo no banco. Após a confirmação e revisão do banco quanto ao sucesso da junção, o mesmo foi transferido para a extensão adequada (.csv) e transferido para o programa *Sequential Oligogenic Linkage Analysis Routine - SOLAR* (ALMASY; BLANGERO, 1998).

A herdabilidade ($h^2 \pm$ erro padrão) para cada fenótipo foi definida com base na teoria quantitativa, a qual a define como a proporção da variância fenotípica total considerando efeitos aditivos poligênicos, calculando a proporção de variância genética aditiva para a variância fenotípica total (σ^2 genética/ σ^2 fenotípica), conforme explicado na primeira seção. Quando não cumprido o pressuposto de normalidade, a transformação logarítmica foi aplicada no programa SOLAR.

Posteriormente, as correlações fenotípicas entre os pares foi particionada em correlação genética ($\rho_g \pm$ erro padrão) e correlação ambiental ($\rho_a \pm$ erro padrão). Quando ρ_g possui o valor de p significativamente diferente de $\pm 1,0$ e, ao mesmo tempo, significativamente diferente de zero, pleiotropia é interpretada como incompleta. Por outro lado, quando o ρ_g não é estatisticamente diferente de $\pm 1,0$, a pleiotropia é considerada completa e significa que os traços avaliados são controlados por um mesmo gene ou conjunto de genes (ALMASY *et al.*, 1997). Isso significa que os efeitos aditivos dos genes são iguais em ambos os traços ($\sigma^2_{g1} = \sigma^2_{g2}$), quando a proporção da correlação entre os efeitos aditivos de compartilhamento dos genes é positiva ($\rho_g=1$). A significância dos parâmetros foi calculada utilizando teste de razão de máxima verossimilhança com base na estatística $-2 [\ln(L_r) - \ln(L_c)]$, que compara a probabilidade de um modelo restrito (L_r) com a probabilidade de um modelo completo (L_c), no qual o parâmetro (h^2, ρ_g) está definido para zero.

A estatística da razão de máxima verossimilhança é assintoticamente distribuída como uma mistura de distribuições qui-quadrado, com o número de graus de liberdade igual ao número de parâmetros fixos no modelo restrito. Os modelos foram ajustados por sexo, idade e cor de pele. Por fim, todas as variáveis foram consideradas significativas quando valor-p $< 0,05$. As análises foram realizadas no SOLAR, Disponível em: www.txbiomed.org/departaments/genetics (ALMASY; BLANGERO, 1998).

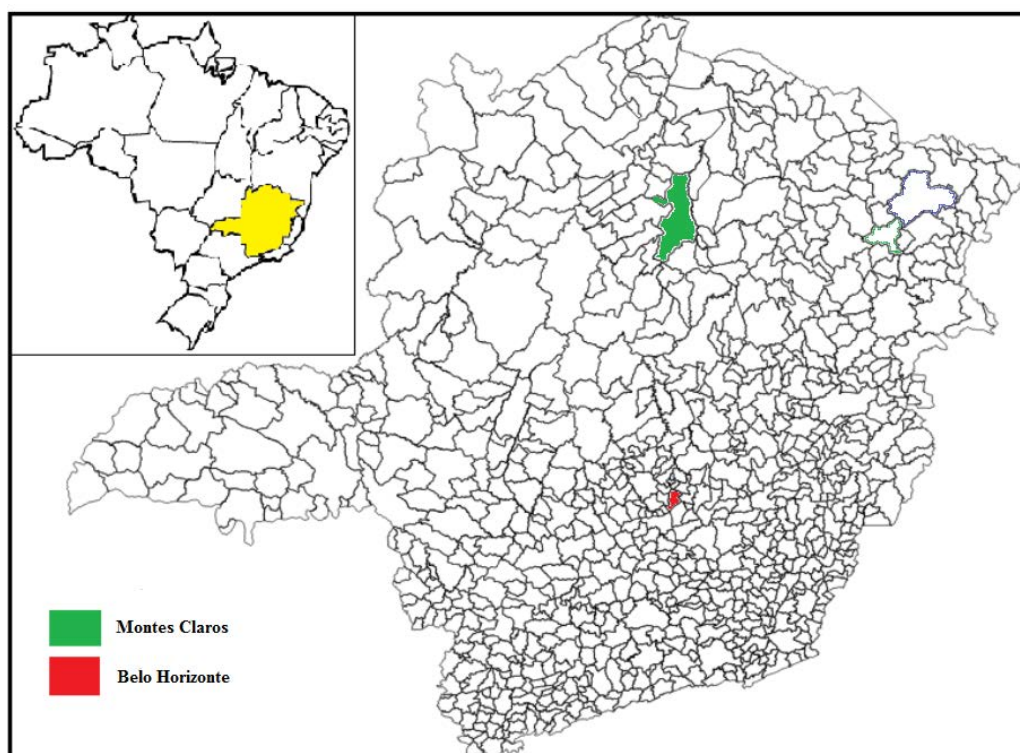
3.2 Estudo em Área Urbana

3.2.1 Delineamento e Área do Estudo

A população do estudo foi composta por maiores de 18 anos residentes na área urbana de Montes Claros, localizada no Norte de Minas Gerais. A distância em relação a Belo Horizonte é de aproximadamente 422 km, e a população total estimada era de 361.915, sendo 344.427 (95,16%) habitantes em área urbana (IBGE, 2010b).

Montes Claros assume a posição de destaque na região, constituindo o núcleo urbano mais expressivo. Insere-se em uma região historicamente caracterizada pelo desempenho econômico, com graves problemas sociais e localização entre entroncamento de importantes eixos rodoviários. O município está localizado no norte do Estado de Minas Gerais, na bacia do Alto Médio São Francisco (Figura 8).

Figura 8 - Mapa de Minas Gerais mostrando a capital Belo Horizonte e a cidade de Montes Claros



Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

3.2.2 População Acessível e Amostragem

A população de estudo foi composta por adultos com 18 anos ou mais de idade residentes em domicílios particulares permanentes na região urbana de Montes Claros. A decisão do tamanho da amostra teve como fator o critério de precisão a partir das estimativas de prevalências. Para tal, o cálculo amostral foi realizado baseando-se na prevalência esperada de 10% do polimorfismo de menor frequência (RAGIN *et al.*, 2009). Atendendo ao critério de precisão, cujo coeficiente de variação fosse inferior a 25% e o erro padrão menor que 3, o tamanho da amostra adequada foi de no mínimo 750 adultos.

Para o sorteio da amostra foi utilizado o método de amostragem por conglomerado, em dois estágios com probabilidades desiguais de seleção, na determinação do número de setores censitários a serem sorteados e no número médio de adultos de 2,15 para cada domicílio.

No primeiro estágio foi utilizado o cadastro de setores censitários do Censo 2010 (IBGE, 2010) para sortear as unidades primárias de amostragem. No segundo estágio foi utilizado o cadastro de endereços do mesmo censo, cuja data de referência é do período de agosto a setembro de 2010, para fins de sorteio de domicílios particulares permanentes. Também foi levado em consideração o tamanho dos conglomerados sorteados, corrigidos pela taxa de resposta após validação de cada setor.

A fração de amostragem global (KISH, 1965; COCHRAN, 1977; KALTON, 1983) é o produto das frações de amostragem do primeiro e segundo estágios, sendo dada por:

$$f = \frac{a \cdot D_j^{2010}}{\sum_{j=1}^A D_j^{2010}} \cdot \frac{b}{D_j^{2010}}$$

onde a é o número de conglomerados da amostra

A é o número de conglomerados na população

b é o número de domicílios sorteados em cada setor

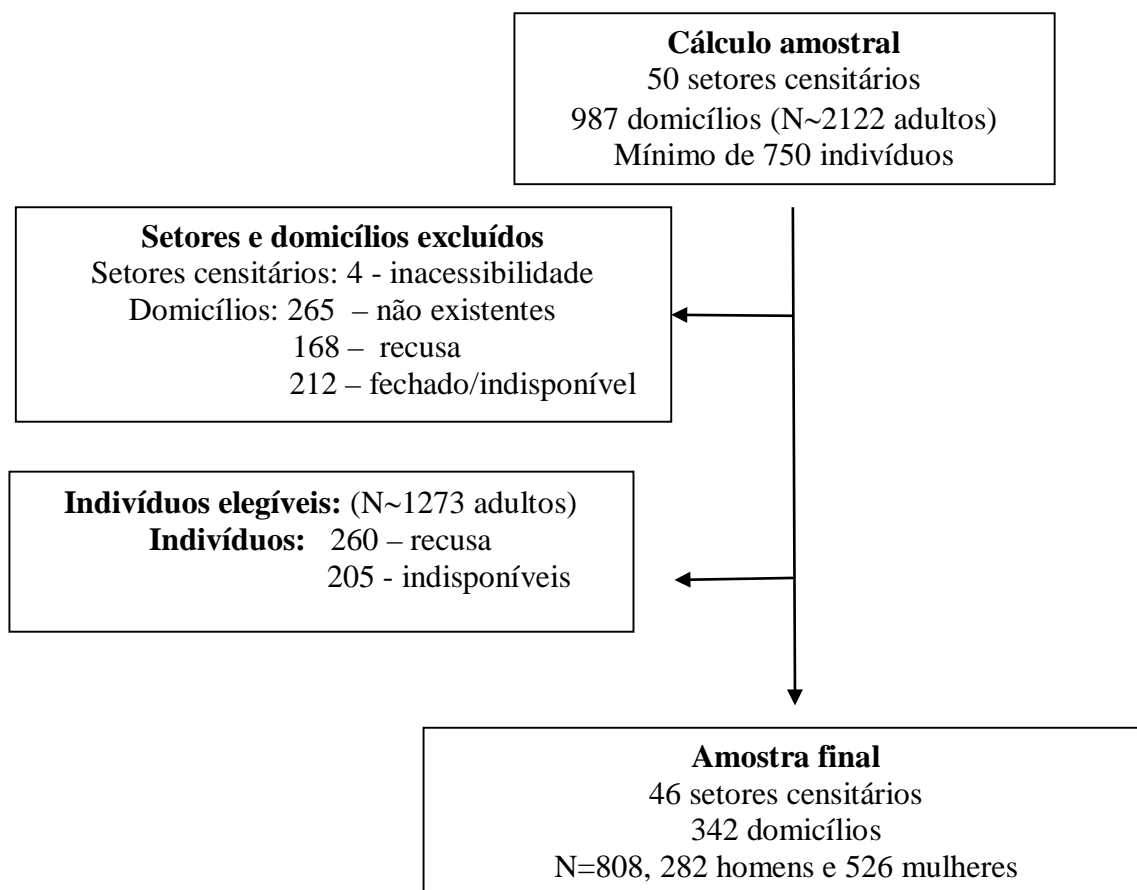
D_j^{2010} é o total de domicílios em 2010 no j -ésimo setor

No cálculo do número de setores sorteados ($a = \frac{750}{15} = 50$) considerou-se o número médio de domicílios sorteados (b) igual a 15. O efeito de delineamento ($deff$) foi observado para b .

Portanto, a coleta de dados foi realizada em duas etapas. A primeira foi direcionada à validação dos setores censitários a fim de confirmar se os endereços do último censo em 2010 estavam compatíveis com o sorteio. Eram verificados os dados de endereço de cada domicílio e, se houvesse irregularidade com o censo, anotava-se o motivo, como, por exemplo, número não existente, não é domicílio, domicílio em construção, vago, fechado, recusa, entre outros.

Nos setores validados, a primeira equipe abordou cada casa sorteada e explicou objetivo do estudo, variáveis a serem realizadas e marcava-se a data e o horário de melhor disponibilidade para a segunda equipe seguir com a coleta de dados. Na segunda etapa os entrevistadores voltavam a explicar os procedimentos a serem feitos e prosseguiam com a coleta de dados em todos os indivíduos dos domicílios.

Figura 9 – Fluxograma da população selecionada no estudo de área urbana, Montes Claros-Minas Gerais



Nota: Elaborado para fins deste estudo.

3.2.3 Questões Éticas

O presente projeto intitulado “Polimorfismo do gene do receptor da leptina (Gln223Arg), obesidade e sua associação com fatores de risco para as doenças cardiovasculares em Montes Claros- Minas Gerais” foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Montes parecer número 226.604 (ANEXO C), e pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais parecer número 213.555 (ANEXO D). Foi conduzido de acordo com os preceitos determinados pela resolução 196/88 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996). Todos os indivíduos foram esclarecidos previamente sob os procedimentos e foram solicitados a assinar o termo de consentimento prévio livre e esclarecido.

3.2.4 Procedimento para Coleta de Dados

Os dados do presente estudo foram coletados durante os meses de janeiro de 2012 a março de 2013, incluindo o período usado para a validação dos setores censitários. Ao iniciar o trabalho de campo, foi aplicado questionário estruturado face a face (ANEXO E) que contemplava aspectos demográficos e socioeconômicos, fatores de risco para as doenças crônicas não transmissíveis e morbidades autorreferidas. No final da entrevista foi realizada avaliação clínica que consistia na aferição de variáveis antropométricas, pressão arterial e obtenção de uma amostra de sangue capilar. Após o início da coleta foi realizada também supervisão da coleta de dados.

Para a aplicação do questionário e aferição de dados clínicos foi realizado treinamento dos entrevistadores e aferidores. Os instrumentos de medição antropométrica e o questionário foram passados por pré-teste e calibração em uma amostra de conveniência, formada por pessoas com diferentes níveis de escolaridade. As reformulações procedentes com base no pré-teste foram executadas e após esses encontros elaborou-se a versão final do questionário, além da adequação dos instrumentos e elaboração do manual de coleta. Ao final, todas as medidas interobservador e intraobservador tiveram coeficiente de variação menor que 20%, considerando a equipe treinada para coleta de dados.

3.2.4.1 Variáveis Demográficas e Socioeconômicas

- **Idade**

A idade foi obtida a partir da data de nascimento registrada na carteira de identidade e devidamente anotada. Posteriormente a idade foi categorizada em faixas etárias sendo: 18 a 29 anos, 30 a 39 anos, 40 a 49 anos, 50 a 59 anos e acima de 60 anos.

- **Raça/ Cor da pele**

O entrevistador classificou a cor da pele das pessoas em: branca; parda/ mulata / morena / cabocla; negra; indígena; amarela / oriental. Posteriormente, essa variável foi categorizada em branco e não branco (parda/ mulata / morena / cabocla; negra; indígena; amarela / oriental).

- **Estado conjugal**

O entrevistador verificou o estado civil dos sujeitos com base nas seguintes categorias: casado; em união; solteiro; separado / divorciado; viúvo. Posteriormente, a variável estado conjugal foi criada e contemplava duas classes: com cônjuge (pessoas casadas ou em união) e sem cônjuge (indivíduos solteiros, separados /divorciados e viúvos).

- **Escolaridade**

O entrevistador questionou o último ano e a série de estudo formal que o participante completou. Posteriormente, o entrevistador transformou a informação em anos de estudo. Essa variável foi categorizada em Analfabeto, 1 a 4 anos, 9 a 11 anos e maior que 12 anos.

- **Classe econômica**

Para definir a classe econômica, foi utilizado um sistema de pontuação padronizado, denominado Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB), versão 2009, proposto pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP, 2009). A classe socioeconômica foi determinada de acordo com os bens materiais do domicílio no qual residiam os adultos em estudo.

Portanto, para cada indivíduo foi calculado um escore de poder aquisitivo, baseado na combinação de características do domicílio e na posse de bens, que incluíam a presença de banheiros na casa, geladeiras, carros, televisão e empregada doméstica, entre outros itens, assim como os anos de escolaridade do responsável pelo domicílio. Este escore assume valores de zero a 46 pontos. Quanto maior a pontuação, maior o poder de compra.

Segundo o documentno da ABEP (2009) as classes socioeconômicas são divididas em oito categorias: A1, A2, B1, B2, C1, C2, D, E. Para este estudo, somaram-se as pontuações referentes a A1 e A2, denominadas como categoria A. O mesmo foi feito com as categoria B1 e B2, C1 e C2. Dessa forma, para esse estudo utilizaram-se cinco estratos (A, B, C, D e E). Por número insuficiente de participantes em algumas categorias, essa variável foi novamente reagrupada em três estratos, A+B, C e D+E.

- **História familiar de obesidade dos pais**

Os participantes eram questionados sobre a existência de obesidade nos pais, sendo classificado em somente o pai, somente a mãe, ambos ou nenhum deles.

- **Ocupação**

A ocupação foi determinada pela principal atividade atual do entrevistado, no qual haviam as categorias propostas eram: empregada de empresa privada, funcionário público, profissional liberal, trabalho informal, aposentado, desempregado ou estudante.

- **Tabagismo e consumo de bebidas alcólicas**

O tabagismo foi avaliado quanto ao consumo atual ou progresso, de forma que participantes que relataram uso de pelo menos 100 cigarros ao longo da vida foram considerados tabagistas. Os participantes foram categorizados em tabagismo atual, ex-tabagista e não fumantes. O consumo de álcool foi definido por meio da pergunta “*O Sr costuma ingerir bebida alcóolica?*” (sim/não), bem como a frequência e o número das doses.

- **Uso contínuo de medicamentos**

O uso de medicamentos foi definido como o uso contínuo na data da entrevista. Foi solicitada a embalagem de todos os medicamentos para permitir a anotação correta do

nome comercial e o princípio ativo. Quando não foi possível observar a embalagem, o nome do medicamento foi registrado de acordo com o relato do indivíduo.

- **Autorrelato em saúde**

O indivíduo foi solicitado a responder como considerava sua saúde em categorias com a seguinte pergunta “*O(A) Sr(a) classificaria seu estado de saúde como: muito bom, bom, regular, ruim, muito ruim, não sabe ou ainda, não quis informar*”. Posteriormente, a variável foi classificada em três categorias, sendo: Muito bom/bom, regular e ruim/muito ruim.

- **Atividade física**

O nível de atividade física foi avaliado mediante aplicação do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) na versão longa da mesma forma que o estudo de área rural, levando em consideração o tipo de atividade e o tempo em cada atividade e em cada domínio. Foi considerado ativo quando praticava 150 minutos ou mais de atividade física semanal (HEALTH AND HUMAN SERVICE/HHS, 2008).

- **Pressão arterial**

A medida da pressão arterial foi aferida utilizando do esfigmomanômetro digital calibrado, marca Modelo HEM-7200® (ONROM®, São Paulo, SP). Os participantes foram orientados a ficar sentados, com dorso encostado na cadeira e relaxados, antebraço direito livre, pés apoiados no chão e braço posicionado na altura do precórdio com a palma da mão voltada para cima com cotovelo ligeiramente fletido.

Foram realizadas três aferições, sendo o intervalo de pelo menos cinco minutos, calculando-se a média conforme critérios da VI Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial (SBC, 2010) e pelo *The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report* (CHOBANIAN *et al.*, 2003).

- **Hipertensão arterial sistêmica**

Foram considerados hipertensos os indivíduos com pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg e/ou em uso de medicação anti-hipertensiva (CHOBANIAN *et al.*, 2003, SBC, 2010).

- **Glicemia**

Os participantes foram instruídos a lavar as mãos com água e sabão, em seguida enxugá-las com uma toalha. O pesquisador segurou a mão direita pendente, mantendo um dos dedos ligeiramente pressionado. Em seguida, utilizou o lancetador de agulha única (garantindo a troca em todos os voluntários) e descartável para obter uma gota de sangue.

Essa gota foi colocada na fita de leitura descartável do glicosímetro Accucheck Performa[®] (Roche *Diagnostics*, Indianapolis, IN) anotando-se em questionário a medida da taxa de glicose observada. No momento da avaliação foi perguntado qual o horário da última refeição e anotado o tempo. A glicemia foi considerada alterada quando os valores foram ≥ 140 mg/dL desde que tivessem realizado a última refeição há mais de 2 horas (WHO, 2006b).

3.2.4.2 Medidas Antropométricas e de Composição Corporal

As técnicas empregadas para obtenção de todas as medidas seguiram procedimentos padronizados (LOHMAN *et al.*, 1988) e todas as medidas antropométricas foram aferidas duas (peso e altura) ou três vezes (demais avaliações), adotando-se como resultado final a média de todas as mensurações.

- **Peso**

O peso foi aferido por meio de uma balança digital calibrada (Modelo Digital Magna[®] 150Kg, G Tech Ltda[®], São Paulo, SP) com aproximação de 0,1 kg, estando os participantes no centro da plataforma da balança, em posição anatômica, vestidos com roupas leves e sem sapatos.

- **Altura**

A altura foi mensurada com o auxílio do estadiômetro individual Alturaexata® (São Paulo, SP) com base de metal e aparato para nivelamento da altura funcionando como o esquadro. Os indivíduos, sem sapatos e sem meias, eram posicionados de pé e de costas para o instrumento, com os pés paralelos e os tornozelos juntos. A região glútea, ombros e a parte posterior da cabeça permaneceram próximos à haste de leitura e os braços soltos ao longo do corpo e cabeça no plano de Frankfurt. Apoiou-se o aparato superior no topo da cabeça sem forçar a mesma para baixo. A medida foi realizada na expiração normal com aproximação de 0,1 cm.

- **Índice de Massa Corporal**

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado de acordo com a fórmula: $IMC = \text{peso (Kg)} / \text{estatura}^2 \text{ (m)}$ classificado conforme os pontos de corte estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde, sendo: $< 18,5 \text{ Kg/m}^2$ baixo peso, $18,5$ a $24,9 \text{ Kg/m}^2$ eutrófico, 25 a $29,9 \text{ Kg/m}^2$ sobrepeso e $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$ obesidade (WHO, 1995).

- **Circunferência abdominal**

Para a aferição da circunferência abdominal (CA), o participante permaneceu em pé com o abdome relaxado e desnudo, braços soltos e os pés juntos. A fita métrica inelástica TBW® (São Paulo, SP), precisão de 1mm, foi posicionada no ponto médio entre a última costela e a parte superior da crista ilíaca. Aferiu-se a medida no final de uma expiração normal até o milímetro mais próximo. No caso de pacientes no qual não era possível a aferição do ponto médio, convencionou-se o local de maior constância da medida após o último rebordo costal (WHO, 2011c).

- **Excesso de peso e obesidade abdominal**

O excesso de peso foi considerado quando os limites do IMC ultrapassaram a classificação da mesma para sobrepeso e obesidade, sendo: $< 25 \text{ Kg/m}^2$ não sobrepeso e $\geq 25 \text{ Kg/m}^2$ sobrepeso; ou $< 30 \text{ Kg/m}^2$ não obeso e $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$ obeso (WHO, 1995). A CA foi categorizada de acordo com os seguintes pontos de corte: sem obesidade abdominal (< 88 cm para mulheres e < 102 cm para homens) e ≥ 88 cm para mulheres e ≥ 102 cm para homens, com obesidade abdominal (WHO, 2000; WHO, 2011).

- **Composição corporal**

A análise da composição corporal foi realizada pelo método de bioimpedância elétrica com aparelho tetrapolar de frequência única de 50kHz, Biodynamics BIA 310 (Biodynamics[®], Shoreline, WA). O protocolo de aferição foi seguido com o participante usando roupas leves, sem acessórios, bexiga com volume desprezível, além de se anotar o horário da última refeição, não sendo possível ser realizado em jejum para a maioria dos pacientes. Não foi realizado o teste nos indivíduos que relataram ter ingerido álcool em grande quantidade no dia anterior, utilizado próteses metálicas, constatada presença de doença cardíaca grave, entre outros.

- **Excesso de gordura corporal**

O percentual de gordura corporal (%GC) foi calculado diretamente pelas fórmulas do fabricante e devidamente anotado. Os pontos de cortes estabelecidos para verificação do excesso de gordura corporal, de acordo com o sexo, foram o percentual de gordura corporal acima de 30% para as mulheres e acima de 20% para os homens (ABERNATHY; BLACK, 1996).

3.2.4.3 Análises Genéticas

Para a realização da genotipagem do polimorfismo do receptor de leptina Gln223Arg, (rs1137101; disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>), foram necessárias etapas de amplificação do material genético através da reação em cadeia da polimerase, digestão com enzima de restrição e, finalmente, a visualização em gel de poliacrilamida, conforme descritos a seguir.

Coleta do material biológico - Para a coleta do DNA genômico foram realizados raspados de mucosa oral com escovas estéreis. As amostras foram imediatamente colocadas em um tubo de 1500 microlitros (μ L) contendo solução de Krebs (NaCl 20%, KCl 2%, CaCl₂ 2%, H₂O 2%, MgSO₄, KH₂PO₄, C₆H₁₂O₆), centrifugadas a 17.900g, em microcentrífuga (Eppendorf[®]-centrifuge 541 R, Hamburgo, Alemanha), por 5 minutos, e o precipitado armazenado a -20 °C no Laboratório de Pesquisa em Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros para posterior extração do DNA.

Extração do DNA – Foi utilizado método de extração com sílica. Após descongelar o raspado, o mesmo foi centrifugado por 5 minutos 11.000 rpm em microcentrífuga. Foi retirado o excesso da solução sobrenadante e adicionados 450 µl de solução *Lysis Buffer* e 20 µl de sílica. Seguiu-se agitando o microtubo em vortex por 5 segundos. Os microtubos foram então colocados em repouso no banho seco a 58°C por 20 minutos, seguindo nova agitação. O conteúdo foi centrifugado pela terceira vez, por 5 minutos, a 11.000 rpm. O próximo passo foi lavar o *pellet* com 450 µl de solução *Washing Buffer* e homogeneizou-se em vortex até dissolver o precipitado. Após duas rodadas de centrifugação a 11.000 rpm, descarte do sobrenadante e dissolução do *pellet*, foi novamente lavado com *Washing Buffer*, e posteriormente centrifugado. O precipitado foi novamente descartado e adicionaram-se 450 µl de etanol 70%, seguido de centrifugação e nova lavagem com 450 µl de acetona.

Após todas essas etapas, seguiu-se com nova centrifugação, deixando o *pellet* em banho seco com tampa aberta a 58°C por 30 minutos. Os microtubos foram então lavados com 100 µl de TE (Tris EDTA), vortexados, até dissolver o precipitado, e centrifugados posteriormente. Finalmente foram colocados em banho seco a 58°C por 24 horas (48 horas, 2ª extração). Após esse tempo, foi adicionado novamente 100 µl de TE (Tris EDTA) e armazenado até a amplificação pela reação em cadeia da polimerase.

Reação em cadeia da polimerase – O DNA extraído foi amplificado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), usando 30pmol dos oligonucleotídeos iniciadores: Direto: 5'ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCCAAATAG3' e Reverso: 5'CAATATTTATGGGCTGAACTGACATT3', 0,5 µl do DNA, 100 µM de dNTPs, 1,5 unidade de Taq DNA polimerase e 2.5 µL 10X *PCR buffer*. A mistura foi então submetida aos seguintes ciclos: um ciclo inicial de 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por um minuto, 60°C por um minuto, 72°C por um minuto e um ciclo final de 72°C por 10 minutos.

Digestão enzimática e eletroforese em gel de poliacrilamida – O produto amplificado contendo 330 pb foi visualizado por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata. Após esse procedimento, o produto (10µL) da PCR foi clivado com a enzima de restrição *MspI* (Promega®, Madison, WI) utilizando-se 1 unidade a 37°C por 16 horas. O produto da digestão foi visualizado em eletroforese em gel de poliacrilamida 15% corado com nitrato de prata, e os produtos da digestão foram visualizados como 330pb para o genótipo AA (selvagem), 293pb e 37bp para AG e 293pb para o GG. Para todas as reações os controles negativo e positivo foram implementados.

3.2.5 Processamento dos Dados e Análise Estatística

À medida que os questionários eram recebidos pela coordenação da coleta, os mesmos eram conferidos para se verificar se havia alguma informação truncada, inadequada ou faltante. Se fosse o caso, a equipe de coleta retornava ao domicílio a fim de retomar a questão. Uma vez completo, todos os questionários foram digitados por dois avaliadores diferentes em máscaras de dados independentes a fim de possibilitar a consistência dos dados. A consistência foi realizada no programa EpiInfo versão 3.5.4 (Disponível em: www.cdc.gov/epiinfo/) e todas as inconsistências de digitação foram corrigidas.

Após a consistência dos dados foi observada baixa taxa de resposta no domicílio e por indivíduo. Entretanto, devido à baixa taxa de resposta, no domicílio e por pessoa, utilizou-se o método de ponderação para suavizar o vício introduzido pela baixa taxa de resposta (KISH, 1965; COCHRAN, 1977; KALTON, 1983). Os pesos de pós-estratificação foram construídos pelo método rake (KALTON, 1983). Esse procedimento ajustou a distribuição segundo idade e sexo da amostra para a população de 2012, obtida no bando de dados do Sistema Único de Saúde (DATASUS). Esse procedimento ajustou a distribuição segundo idade e sexo da amostra. Ao final, também foi conferida a distribuição da escolaridade com base na população brasileira e foram semelhantes.

Contudo, para o início das análises estatísticas foram considerados os desfechos de excesso de peso bem como variáveis de ajuste, avaliando potenciais variáveis, confusão e possíveis interações, conforme descritas a seguir.

3.2.5.1 Variáveis Dependentes

As variáveis dependentes foram os indicadores de excesso de peso: sobrepeso e obesidade, obesidade abdominal e excesso de gordura corporal. O Quadro 4 apresenta a composição detalhada das variáveis dependentes utilizadas para o estudo.

Quadro 4 - Descrição dos desfechos relacionados ao excesso de peso

VARIÁVEL	DESCRIÇÃO	TIPO	CATEGORIAS
Sobrepeso	$IMC \geq 25 \text{ Kg} / \text{m}^2$	Catagórica	0 – Não 1 – Sim
Obesidade	$IMC \geq 30 \text{ Kg} / \text{m}^2$	Catagórica	0 – Não 1 – Sim
Obesidade abdominal	Circunferência abdominal $\geq 88 \text{ cm}$ para mulheres e $\geq 102 \text{ cm}$ para homens	Catagórica	0 – Não 1 – Sim
Excesso de gordura corporal	Gordura corporal $\geq 20\%$ em mulheres e $\geq 30\%$ para homens	Catagórica	0 – Não 1 – Sim

Fonte: Elaborado para fins deste estudo.

3.2.5.2 Variável Independente

O polimorfismo do receptor de leptina Gln223Arg foi definido como exposição de interesse principal para este estudo. Foi utilizada a revisão de literatura como critério principal de identificação das potenciais variáveis de confusão.

- **Variáveis de Confusão**

Todas as associações estatísticas entre o polimorfismo e os desfechos de excesso de peso foram controladas por potenciais variáveis de confusão ou interação seguindo a literatura, dentre elas idade, sexo, ingestão habitual de bebidas alcoólicas, escolaridade e história familiar de obesidade (Quadro 5).

Quanto às análises univariadas e multivariadas, foram utilizadas como medida de associação a Razão de Prevalências (RP), calculada com o auxílio da técnica de regressão de Poisson com estimador de variância robusta, por se tratar de um delineamento transversal cujo desfecho pesquisado é frequente (BARROS; HIRAKATA, 2003).

Quadro 5 - Descrição da variável exposição principal (Polimorfismo do Receptor de Leptina Gln223Arg) e potenciais variáveis de confusão: características demográficas, socioeconômicas, ambientais e comportamentais

EXPOSIÇÃO PRINCIPAL	DESCRIÇÃO	TIPO	CATEGORIAS
LEPR Gln223Arg	Polimorfismo do receptor de Leptina Gln223Arg	Catagórica	Genótipos Alelos 0 – GG 0 – G 1 – AG 1 – A 2 – AA
VARIÁVEIS	DESCRIÇÃO	TIPO	CATEGORIAS
Faixa etária	Faixa etária (anos)	Catagórica	0 – 18 a 29 1 – 30 a 39 2 – 40 a 49 3 – 50 a 59 4 – ≥ 60
Sexo	Sexo	Catagórica	0 – Masculino 1 – Feminino
Cor	Cor de pele	Catagórica	0 – Branca 1 – Não Branca
Escolaridade	Anos de estudo (anos)	Catagórica	0 – ≥ 12 1 – 9 a 11 2 – 5 a 8 3 – 1 a 4 4 – 0
Estado civil	Estado civil atual	Catagórica	0 – Casado ou união consensual 1 – Desquitado/divorçado 2 – Solteiro 3 – Viúvo
Ocupação	Principal ocupação	Catagórica	0 - Empresa privada 1 - Funcionário público 2 - Profissional liberal 3 - Trabalho informal 4 - Aposentado 5 - Desempregado 6 - Estudante
Classificação socioeconômica	Escore ABEPE	Catagórica	0 – Classe A 1 – Classe B 2 – Classe C 3 – Classe D 4 – Classe E
Tabagismo	Tabagismo atual ou progresso	Catagórica	0 – Não tabagista 1 – Ex-tabagista 2 – Tabagista
Ácool	Ingestão habitual de bebidas alcoólicas	Catagórica	0 – Não 1 – Sim
História familiar de obesidade	História familiar de obesidade dos pais	Catagórica	0 – Nenhum deles 1 – Somente o pai 2 – Somente a mãe 3 – Ambos

Fonte: Elaborado para fins deste estudo

Inicialmente, para entrada das variáveis no modelo de regressão, foram consideradas aquelas com nível de significância de 0,2 (HOSMER *et al.*, 2000) ou quando eram importantes de acordo com a literatura. Posteriormente, de acordo com o comportamento da terceira variável quanto à modificação da força de associação das variáveis inseridas no modelo, foram consideradas aquelas potenciais variáveis de confusão para ajuste. Ao final, o modelo foi ajustado pelas variáveis faixa etária, sexo, tabagismo, ingestão habitual de bebidas alcoólicas, escolaridade e história familiar de obesidade dos pais.

Para a construção dos modelos de regressão finais, foram observados os parâmetros de teste de máxima verossimilhança, o teste Wald e o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) como critérios para a permanência das variáveis no modelo a fim de garantir precisão estatística.

Além dos potenciais fatores de confusão foram testadas possíveis interações entre as variáveis independentes. Nenhuma das variáveis independentes demonstrou interação pelo teste de Breslow-Day (LIU, 2005).

Para a verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg, as frequências genotípicas observadas foram comparadas às frequências esperadas, em que, independentemente da frequência genotípica, a frequência deve ser não significativa, ou seja, espera-se permanecer sem diferenças ao longo das gerações subsequentes (SPEICHER *et al.*, 2010).

Por se tratar de plano complexo de amostragem, foram declarados no módulo *survey* um nível de estrato (setor censitário) e a ponderação (peso rake) com o objetivo de produzir estimativas populacionais para o cumprimento dos objetivos propostos. Assim, inicialmente, foi realizada a análise descritiva dos dados, a qual continha frequências absolutas, que seriam o n amostral sem os pesos, e as proporções, levando em consideração o desenho amostral \pm erro padrão (EP).

Ainda, as análises de regressão de Poisson foram realizadas dentro do módulo *survey*, utilizado como estimador de variância robusta com o objetivo de minimizar problemas ao convergir e produz resultados semelhantes àqueles obtidos pelo uso do procedimento padrão (COUTINHO *et al.*, 2008). As estimativas não ajustadas e ajustadas foram apresentadas, e os intervalos de 95% de confiança (IC 95%), calculados. Por fim, para a análise dos dados foi utilizado o pacote estatístico *Statistical Software for Professional* (Stata Corp., Texas, USA), versão 12 com $\alpha = 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

4 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados de acordo com os dois projetos de pesquisa e listados de acordo com os objetivos da tese. Foram produzidos três artigos. Um foi publicado referente ao estudo na área rural descrevendo uma das localidades (*Annals of Human Genetics*) conforme anexo (ANEXO F). Adicionalmente, esse estudo foi ampliado para outras duas comunidades conforme este documento apresenta. Os outros dois artigos foram resultados preliminares do estudo na área urbana, publicados nas revistas *Scholarly Research Network (ISRN) Genetics* e *Cardiology Research and Practice e International* (ANEXOS G e H). Dessa forma, a presente seção será descrita conforme os principais resultados obtidos ao final dos dois estudos, e os manuscritos estão em processo de correção ou submissão.

4.1 Estudo de Herdabilidade, Correlações Genéticas e Ambientais de Fenótipos Cardiometabólicos em Áreas Rurais, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais

4.1.1 Características dos Participantes e Descrição dos Pedigrees

Os resultados das análises dos pedigrees na população estudada estão apresentados na Tabela 1. Foram obtidos dados de 1884 núcleos familiares e 1696 fundadores, totalizando 4907 membros nos pedigrees. Como pode ser observado nessa tabela, foi fenotipada 71,45% da população acessível maior que 18 anos. O número de pedigrees das comunidades foi 25 em Virgem das Graças, 20 em Caju e 44 em São Pedro do Jequitinhonha. É importante ressaltar que entre 83 e 93% dos participantes em cada comunidade pertenciam a um mesmo pedigree.

A distribuição dos diferentes níveis de parentesco está apresentada na Tabela 2. Adicionalmente é mostrado que 931 indivíduos foram fenotipados (45,6% homens e 54,4% mulheres) em 89 pedigrees. Deve-se salientar que 24 desses estiveram compostos por 1 indivíduo (*singletons*). Como se trata de pedigrees com muitos indivíduos em uma mesma família, foram observadas relações parentais de até décimo grau.

Tabela 1- Características dos pedigrees em Virgem das Graças (2008), Caju (2009) e São Pedro do Jequitinhonha (2010), Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais

Características	Virgem das Graças (N)	Caju (N)	São Pedro do Jequitinhonha (N)	Total
Famílias nucleares	549	505	830	1884
Fundadores	490	472	734	1696
Pessoas isoladas ^a	4	4	16	24
Membros no pedigree	1470	1299	2138	4907
Pedigree 1 N(%)	1218 (82,9)	1160 (89,3)	1921 (89,9)	-
População inacessível ^b	797	738	1199	2734
População acessível	673	561	939	2173
Amostra fenotipada N(%)	288(42,7)	278(49,5)	365(38,8)	931(42,8)
População acessível ≥ 18 anos	374	365	564	1303
Amostra adultos fenotipados (%)	77,0	76,1	64,7	71,45

Fonte: Dados da Pesquisa.

Nota:^a Não identificado em famílias (*singletons*); ^b Falecido ou não vive no local.

A distribuição das características sociais, antropométricas, clínicas e hábitos de vida está demonstrada na Tabela 3. A média de idade foi 45,09±18,41 anos, com mediana 42,0, variando de 18 a 99 anos e com valores semelhantes nas três localidades (P=0,747; dados não mostrados).

A população avaliada foi composta por maioria não branca (75,6%), sem cônjuge (66%), baixa escolaridade (64,1% com menos de quatro anos de estudo). Quanto ao estado nutricional, 35% estavam com sobrepeso e 10,6% com obesidade. Quanto a outras doenças crônicas, 40,4% estavam com pressão arterial elevada e 5,0% diabetes *mellitus*, além de hábitos de vida não saudáveis, como a ingestão habitual de álcool (10,2%) e tabagismo (20,5%). Por fim, as mulheres apresentaram maiores níveis médios de lipídios e IMC, enquanto os homens apresentaram maior frequência na ingestão de álcool e tabagismo.

Tabela 2 - Distribuição das relações parentais dos pedigrees em Virgem das Graças (2008), Caju (2009) e São Pedro do Jequitinhonha (2010), Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais

Relação de parentesco	Virgem das Graças		Caju		São Pedro do Jequitinhonha		Total	
	Pedigree (n)	Fenótipo (n)	Fenótipo (n)	Fenótipo (n)	Pedigree (n)	Fenótipo (n)	Pedigree (n)	Fenótipo (n)
Pedigrees	25	288	20	278	44	365	89	931
Pais-filhos	1855	182	1650	194	2797	176	6288	552
Irmãos	902	124	700	166	1226	170	2816	460
Avós-Netos	2668	31	2256	47	28	42	8764	123
<i>Avuncular</i>	1994	213	1373	197	3870	239	6160	628
Meio-irmãos	61	4	94	11	298	15	450	30
Primo de primeiro grau “duplo”*	66	20	64	21	19	5	149	46
Outros parentes de 2º grau	1044	79	37	6	125	3	1206	88
3º grau	10160	722	5411	341	10424	427	25873	1490
4º grau	11141	1070	4138	473	10557	509	25693	2052
5º grau	9473	1019	2913	304	9691	376	21954	1699
6º grau	5936	512	1458	70	6073	128	13403	710
7º grau	2721	183	386	9	2923	14	6014	206
8º grau	871	68	33	-	626	-	1530	68
9º grau	243	7	-	-	66	-	309	7
10º grau	6	-	-	-	-	-	6	-
Não relacionados	694280	27161	653566	31580	1793711	50564	3129582	109305
Total de relações conhecidas	49141	4234	20513	1839	48723	2104	120615	8159

Fonte: Dados da Pesquisa. *Primos de primeiro grau “duplo” significa que os pais se casaram na mesma família, ou seja, um se casou com o irmão do outro, gerando filhos que são considerados duplamente primos.

Tabela 3 – Distribuição das características clínicas individuais por sexo na população total, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, 2008-2010

Fenótipos	Masculino			Feminino			Total			Valor-p ^a
	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	
Idade (anos)	425	45,72	18,62	506	44,56	18,22	931	45,09	18,41	0,339
IMC (kg/m ²)	422	23,22	3,58	504	24,73	4,92	926	23,23	4,35	<0,001
CA (cm)	425	83,85	10,50	505	84,45	12,52	930	83,85	11,64	0,623
Glicose (mg/dL)	397	83,39	19,01	487	83,46	21,75	884	83,55	20,57	0,930
HDL (mg/dL)	394	48,55	15,85	487	52,66	15,72	881	48,55	15,63	<0,001
LDL (mg/dL)	395	125,61	34,91	487	131,45	41,81	882	126,51	38,74	0,015
VLDL (mg/dL)	393	20,46	14,92	487	20,64	11,39	880	20,65	13,08	0,983
Colesterol total (mg/dL)	396	194,84	43,79	487	205,85	48,40	883	195,70	46,21	0,001
Triglicérides (mg/dL)	396	105,14	77,44	487	104,66	57,16	883	105,67	67,16	0,765
PAS (mmHg)	425	132,51	22,32	505	129,33	23,30	930	132,65	22,83	0,051
PAD (mmHg)	425	81,97	12,72	505	80,15	13,23	930	82,12	13,00	0,023
Fenótipos	N	%	N	%	N	%	Valor-p ^a			
Raça/Cor de pele										
Branco	83	19,7	143	28,3	226	24,4	0,002			
Não branco	340	80,3	361	71,7	701	75,6				
Estado Conjugal										
Sem cônjuge	285	68,2	321	64,2	606	66,0	0,205			
Com cônjuge	133	31,8	179	35,8	312	34,0				
Escolaridade (anos)										
Analfabeto	87	23,2	81	17,7	168	20,2	0,002			
1-4	175	46,7	191	41,7	366	43,9				
5-8	66	17,6	84	18,3	150	18,0				
≥9	47	12,5	102	22,3	149	17,9				
Atividade Física										
Ativo	364	87,3	419	84,1	783	85,6	0,176			
Sedentário	53	12,7	79	15,9	132	14,5				
Estado Nutricional										
Não sobrepeso	314	74,4	288	57,2	602	65,0	<0,001			
Sobrepeso	108	25,6	215	42,9	323	35,0				
Estado Nutricional										
Não obeso	402	95,3	425	84,5	827	89,4	<0,001			
Obeso	20	4,7	78	15,5	98	10,6				
Hipertensão										
Não	259	60,9	296	58,5	555	59,6	0,449			
Sim	166	39,1	210	41,5	376	40,4				
Obesidade abdominal										
Não	395	92,3	323	64,1	718	77,3	<0,001			
Sim	30	7,8	181	21,1	211	22,7				
Diabetes Mellitus										
Não	404	95,3	478	94,8	882	95,0	0,439			
Sim	20	5,2	26	5,2	46	5,0				
Consumo de álcool										
Não	343	82,7	480	95,8	823	89,8	<0,001			
Sim	415	17,23	21	4,2	93	10,2				
Tabagismo										
Não	159	38,1	366	73,4	525	57,4	<0,001			
Ex-tabagista	129	30,9	74	14,8	203	22,1				
Sim	129	30,9	59	12,0	188	20,5				

Fonte: Dados da Pesquisa. Nota: DP: Desvio-padrão. IMC: Índice de Massa Corporal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica; ^a Tese t ou qui-quadrado entre sexos.

4.1.2 Estimativa de Herdabilidade

As estimativas de herdabilidade ($h^2 \pm$ erro-padrão) para fenótipos antropométricos, lipídicos e clínicos foram calculadas, e o modelo não ajustado (Modelo 1) e ajustado por sexo, idade e cor de pele (Modelo 2) estão apresentados na Tabela 4.

As estimativas de herdabilidade foram consideradas moderadas, variando de 40 a 48% para os níveis de lipídeos; 58% e 60% para IMC e circunferência abdominal (CA), respectivamente, e em torno de 30% para níveis pressóricos quando ajustadas. De forma geral, para os traços de adiposidade (IMC e CA), as herdabilidades ficaram em torno de 60%, e por outro lado, as estimativas pressão arterial sistólica e diastólica em torno de 30%.

Efeitos significativos de conglomerado correspondente ao domicílio (*household*) foram encontrados para o HDL ($c^2=0,21 \pm 0,05$; $p < 0,001$); VLDL ($c^2=0,10 \pm 0,04$; $p < 0,01$); hipertensão ($c^2=0,14 \pm 0,06$; $p < 0,015$); dados não mostrados.

Tabela 4 - Estimativas da herdabilidade dos fenótipos cardiometabólicos nos modelos não ajustados e ajustados na população total, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, 2008-2010

Fenótipos (N=931)	h^2	EP	Valor-p	h^2	EP	Valor-p
	Modelo 1			Modelo 2 ^a		
HDL (mg/dL)	0,44	0,06	<0,001	0,42	0,05	<0,001
LDL (mg/dL)	0,33	0,06	<0,001	0,48	0,06	<0,001
Colesterol total (mg/dL)	0,31	0,06	<0,001	0,47	0,06	<0,001
Triglicérides (mg/dL)	0,32	0,06	<0,001	0,44	0,06	<0,001
VLDL (mg/dL)	0,34	0,06	<0,001	0,40	0,06	<0,001
IMC (kg/m ²)	0,60	0,06	<0,001	0,58	0,06	<0,001
CA (cm)	0,50	0,06	<0,001	0,60	0,06	<0,001
PAS (mmHg)	0,18	0,06	<0,001	0,31	0,07	<0,001
PAD (mmHg)	0,20	0,06	<0,001	0,28	0,07	<0,001

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Todas as variáveis bioquímicas sofreram previamente transformação logarítmica. h^2 : Herdabilidade; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade; IMC: Índice de Massa Corporal; CA: Circunferência abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; ^a Ajustado por sexo, idade e cor de pele.

4.1.3 Correlações Genética e Ambiental

A correlação genética significativa entre fenótipos sugere a existência de regulação das vias metabólicas pelo mesmo gene ou conjunto de genes (pleiotropia). As correlações genéticas e ambientais estão apresentadas na Tabela 5.

Sendo assim, todas as possíveis combinações entre lipoproteínas e colesterol total foram realizadas. Em relação aos pares de traços lipídicos, a maioria dos pares mostrou correlação genética (ρ_g) significativa. Efeitos genéticos moderados e altos foram observados entre os pares de lipídeos. Considerando os valores do modelo ajustado, os maiores valores de ρ_g foram encontrados nos pares de fenótipos triglicérides – VLDL ($\rho_g=0,99$), de colesterol total – LDL ($\rho_g=0,90$) seguido por colesterol total – VLDL ($\rho_g=0,54$), triglicérides – colesterol total ($\rho_g=0,58$) e triglicérides – LDL ($\rho_g=0,42$). A maioria dos pares mostraram maiores níveis de correlação após ajuste ou se tornaram significativos, exceto HDL– LDL permanecendo não significativo após ajuste (Modelo 2).

Para a maioria dos pares de fenótipos avaliados, a correlação genética demonstrou pleiotropia incompleta. Isso significa que eles possuem um *background* genético na determinação dos pares, entretanto não de um mesmo locus. Foi encontrada pleiotropia completa entre triglicérides - VLDL mantendo-se após ajustado por sexo, idade e cor de pele. Então, o metabolismo dos triglicérides e o do VLDL são controlados por um mesmo gene ou conjunto de genes.

Em relação às correlações entre os índices de excesso de peso (IMC e CA) com níveis lipídicos, o IMC e CA foram correlacionados com triglicérides ($\rho_g=0,35$ e $0,43$, respectivamente) e com VLDL ($\rho_g=0,37$ e $0,45$, respectivamente). A CA ainda foi correlacionada com HDL ($\rho_g= -0,35$). Outras correlações significativas foram encontradas entre pressão arterial sistólica e diastólica com triglicérides ($\rho_g= 0,38$ e $0,63$, respectivamente) e com VLDL ($\rho_g= 0,39$ e $0,59$, respectivamente). A pressão sistólica ainda foi significativamente correlacionada com HDL ($\rho_g= -0,29$) e a diastólica com colesterol total ($\rho_g=0,32$).

Tabela 5 - Correlação genética e ambiental entre fenótipos cardiometabólicos na população total, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, 2008-2010

Pares de fenótipos	ρ_g	$\pm EP$	ρ_a	$\pm EP$	ρ_F	ρ_g^c	$\pm EP$	ρ_a^c	$\pm EP$	ρ_g^c
Triglicérides - HDL	-0,13 ^a	0,11	-0,17 ^a	0,07	-0,15	-0,15	0,11	-0,20 ^a	0,07	-0,18
Triglicérides - LDL	0,42 ^a	0,12	0,41 ^a	0,06	0,41	0,42 ^a	0,12	0,41 ^a	0,06	0,35
Triglicérides - Colesterol total	0,54 ^a	0,10	0,52 ^a	0,05	0,53	0,58 ^a	0,08	0,39 ^a	0,06	0,47
Triglicérides - VLDL	0,99 ^{a,b}	0,0002	0,99	0,0003	0,99	0,99 ^{a,b}	0,0002	0,99 ^a	0,0003	0,99
HDL - LDL	-0,06	0,12	-0,001	0,07	-0,02	-0,04	0,11	-0,06	0,08	0,11
HDL - Colesterol total	0,33 ^a	0,11	0,25 ^a	0,06	0,28	0,29 ^a	0,10	0,26 ^a	0,07	0,27
HDL - VLDL	-0,16	0,12	-0,16 ^a	0,06	-0,16	-0,18	0,11	-0,19 ^a	0,07	-0,18
Colesterol total - LDL	0,87 ^a	0,03	0,92 ^a	0,01	0,90	0,90 ^a	0,02	0,89 ^a	0,01	0,90
Colesterol total - VLDL	0,50 ^a	0,11	0,55 ^a	0,05	0,54	0,54 ^a	0,09	0,44 ^a	0,06	0,48
LDL- VLDL	0,40 ^a	0,12	0,41 ^a	0,05	0,41	0,46 ^a	0,10	0,26 ^a	0,07	0,34
IMC - Triglicérides	0,37 ^a	0,10	0,21 ^a	0,08	0,28	0,35 ^a	0,10	0,22 ^a	0,08	0,28
IMC - HDL	-0,12	0,10	-0,17	0,09	-0,14	-0,19	0,10	-0,18 ^a	0,08	-0,18
IMC - Colesterol total	0,13	0,12	0,22 ^a	0,08	0,17	0,07	0,10	0,23 ^a	0,09	0,14
IMC - LDL	0,03	0,12	0,32 ^a	0,08	0,17	-0,001	0,11	0,35 ^a	0,09	0,16
IMC - VLDL	0,41 ^a	0,11	0,20 ^a	0,08	0,28	0,37 ^a	0,10	0,21 ^a	0,08	0,28
CA - Triglicérides	0,37 ^a	0,10	0,38 ^a	0,06	0,37	0,43 ^a	0,09	0,23 ^a	0,08	0,32
CA - HDL	-0,33 ^a	0,10	-0,02	0,08	-0,17	-0,35 ^a	0,09	-0,04	0,08	-0,20
CA - Colesterol total	0,08	0,12	0,42 ^a	0,06	0,27	0,16	0,10	0,20 ^a	0,09	0,18
CA - LDL	0,09	0,12	0,42 ^a	0,07	0,28	0,18	0,10	0,22 ^a	0,09	0,20
CA - VLDL	0,39 ^a	0,11	0,37 ^a	0,06	0,37	0,45 ^a	0,10	0,22 ^a	0,08	0,32

(Continua)

(Conclusão)

Pares de fenótipos	ρ_g	$\pm EP$	ρ_a	$\pm EP$	ρ_f	ρ_g^c	$\pm EP$	ρ_a^c	$\pm EP$	ρ_f^c
PAS - Triglicérides	0,26	0,17	0,26 ^a	0,06	0,25	0,38 ^a	0,14	0,02	0,07	0,15
PAS - LDL	-0,04	0,19	0,33 ^a	0,06	0,23	0,21	0,13	-0,006	0,08	0,07
PAS - Colesterol total	-0,15	0,19	0,40 ^a	0,05	0,26	0,13	0,13	0,08	0,07	0,10
PAS - HDL	-0,41 ^a	0,18	0,18 ^a	0,06	0,01	-0,29 ^a	0,14	0,16 ^a	0,07	-0,003
PAS - VLDL	0,27	0,18	0,25 ^a	0,06	0,25	0,39 ^a	0,15	0,02	0,07	0,15
PAD - Triglicérides	0,51 ^a	0,18	0,20 ^a	0,06	0,27	0,63 ^a	0,16	0,04	0,07	0,23
PAD - LDL	0,07	0,18	0,28 ^a	0,06	0,22	0,26	0,14	0,10	0,08	0,14
PAD - Colesterol total	0,12	0,17	0,31 ^a	0,06	0,26	0,32 ^a	0,13	0,14	0,07	0,20
PAD - HDL	-0,09	0,15	0,08	0,06	0,03	-0,05	0,14	0,07	0,07	0,03
PAD - VLDL	0,55 ^a	0,19	0,18 ^a	0,06	0,20	0,59 ^a	0,15	0,05	0,07	0,23

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Todas as variáveis bioquímicas sofreram previamente transformação logarítmica. ρ_g : Correlação genética; ρ_a : Correlação ambiental; ρ_f : Correlação fenotípica. HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade; IMC: Índice de Massa Corporal; CA: Circunferência abdominal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; EP: Erro padrão. ^a. Estatisticamente diferente de zero 0.

^b. Não estatisticamente diferente de ± 1 . ^c. Ajustado por sexo, idade e cor de pele (N=931).

Além disso, correlações ambientais significativas também foram encontradas entre muitos pares de fenótipos, mas, em geral, foram baixas, exceto triglicérides – VLDL ($\rho_a = 0,99$), colesterol total - LDL ($\rho_a = 0,89$), seguido pelo colesterol total - VLDL ($\rho_a = 0,44$) e triglicérides – LDL ($\rho_a = 0,41$). As outras associações foram em torno de 0,39 ou menos.

Por outro lado, o IMC e a CA demonstraram correlações ambientais significativas em traços que não revelaram correlações genéticas para alguns pares de fenótipos (HDL, LDL, colesterol total para IMC, e LDL e colesterol total para CA). Isso significa que, para alguns fenótipos, o ambiente prevalece na regulação conjunta daqueles fenótipos em questão. Por exemplo, o colesterol total e LDL não foram correlacionados geneticamente com IMC e CA, mas demonstraram correlação ambiental significativa.

4.2 Estudo da Associação dos Fatores Cardiometabólicos, Polimorfismo do Receptor de Leptina Gln223arg e Indicadores de Excesso de Peso

4.2.1 Características dos Participantes e Descrição da População

A amostra final foi constituída de 808 participantes, selecionados a partir de 46 setores censitários. A frequência de homens que aceitaram participar do estudo foi de 34,9% (282) e de mulheres 65,1% (526), havendo necessidade de se construir pesos de pós-estratificação considerando a idade e sexo com a base no censo populacional da cidade de Montes Claros.

A distribuição das características demográficas e socioeconômicas de acordo com o sexo está apresentada na Tabela 6. A faixa etária de maior prevalência foi de 18 a 29 anos 33,4% (2,0), de cor parda/negra 82,3% (1,6), em união (cônjuge) 54,6% (2,1), de 9 a 11 anos de escolaridade 45,7% (1,9), sem histórico familiar de obesidade dos pais 83,4% (2,2), trabalhando em empresa privada 23,8% (1,9) e de classe C 59,8% (2,7), que representa em média entre as classes C1 e C2 um ganho de mensal familiar de R\$960,39. Somente a ocupação e estado civil demonstraram diferença na distribuição por sexo, sendo as mulheres mais frequentemente encontradas sem cônjuge 50,9% (2,2) e com trabalho informal 31,3% (2,5).

Tabela 6 - Distribuição da população estudada segundo as características demográficas e socioeconômicas de acordo com o sexo. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013

Variáveis	Total		Sexo		Valor-p ^c
	n ^a	% ^b ± (EP)	Masculino % ^b ± (EP)	Feminino % ^b ± (EP)	
Idade (anos)					
18 a 29	209	33,4 (2,0)	32,9 (2,7)	33,8 (2,4)	0,061
30 a 39	150	22,3 (2,0)	24,5 (2,8)	20,4 (2,0)	
40 a 49	138	16,6 (1,5)	13,1 (2,0)	19,8 (1,5)	
50 a 59	140	14,6 (1,3)	15,7 (2,1)	13,7 (1,5)	
≥60	171	13,1 (1,2)	13,8 (1,7)	12,4 (1,3)	
Raça/ Cor de pele^d					
Branca	154	17,7 (1,6)	16,3 (2,4)	18,9 (1,8)	0,362
Parda/Negra	652	82,3 (1,6)	83,7 (2,4)	81,1 (1,8)	
Estado Conjugal					
Com cônjuge	447	54,6 (2,1)	60,7 (3,1)	49,1 (2,2)	0,002
Sem cônjuge	361	45,4 (2,1)	39,3 (3,1)	50,9 (2,2)	
Escolaridade (anos)					
≥ 12	115	15,0 (1,9)	12,0 (2,2)	17,6 (2,4)	0,260
9 a 11	320	45,7 (1,9)	48,7 (3,2)	42,9 (2,8)	
5 a 8	109	13,3 (1,4)	13,1 (2,1)	13,3 (1,5)	
1 a 4	200	20,6 (1,6)	20,3 (1,5)	20,8 (1,5)	
Analfabeto	62	5,5 (0,9)	5,5 (1,4)	5,4 (0,8)	
Histórico familiar de obesidade					
Nenhum	674	83,4 (2,2)	84,4 (3,2)	82,4 (3,2)	0,563
Mãe	81	10,6 (1,6)	8,9 (2,4)	12,1 (1,8)	
Pai	27	3,3 (0,8)	3,7 (1,4)	2,9 (0,9)	
Ambos	25	2,7 (0,8)	3,0 (1,1)	2,6 (0,7)	
Principal ocupação					
Empresa privada	161	23,8 (1,9)	29,9 (3,4)	18,3 (2,0)	<0,001
Funcionário público	53	5,6 (1,0)	3,5 (1,0)	7,5 (1,3)	
Profissional liberal	128	19,1 (1,9)	28,0 (3,2)	11,2 (1,5)	
Trabalho informal	180	18,5 (1,4)	4,3 (1,3)	31,3 (2,5)	
Aposentado	155	13,4 (1,5)	16,8 (2,4)	10,4 (1,4)	
Desempregado	79	11,2 (1,4)	10,6 (2,0)	11,8 (1,8)	
Estudante	52	8,2 (1,2)	6,9 (1,6)	9,5 (1,3)	
Classe social					
A e B	159	19,5 (3,0)	22,0 (3,6)	17,2 (3,1)	0,213
C	468	59,8 (2,7)	59,0 (3,5)	60,5 (2,8)	
D e E	179	20,7 (2,4)	18,9 (3,2)	22,2 (2,6)	

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: ^a n = valores amostrais. ^b Proporções populacionais. ^cp<0,05 para a diferença entre sexos (teste qui-quadrado); ^dParda/Negra contempla os participantes pardos, mulatos, morenos, caboclos e negros.

4.2.2 Características Clínicas, Estado Nutricional e Hábitos de Vida

Quanto às variáveis do estado nutricional (Tabela 7), foi observado que 31,3% (1,8) da população estava com sobrepeso; 19,4% (1,7) obesidade; 26,8% (1,8) com circunferência abdominal (CA) elevada e 49,1% (1,7) com excessiva gordura corporal.

As mulheres tinham maior prevalência de CA elevada 36% (2,0) em comparação com os homens 15,6% (2,5), $p < 0,001$.

Quando as variáveis clínicas foram estimadas, 34,9% (1,5) apresentaram pressão arterial elevada e 6,4% (0,01) glicemia alterada. Por fim, 9,5% (1,6) relataram tabagismo atual; 34,2% (2,7) ingestão frequente de bebida alcoólica; 32,4% (1,8) autorrelataram a saúde como regular; 19,5% (2,1) eram sedentários e 33,4% (1,8) faziam uso de medicamentos contínuos. Os homens fumavam 14,9% (3,2) e bebiam 42,1% (4,0) mais em comparação às mulheres, além de serem mais sedentários 23,1% (3,3), e utilizavam mais medicamentos contínuos 33,4% (1,8); ($p < 0,05$).

4.2.3 Frequência do Polimorfismo Gln223arg e sua Associação com Fenótipos Cardiometabólicos

As frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo LEPR Gln223Arg estão apresentadas na Tabela 8. Foi observada maior frequência alélica de A 63,6% (2,8) e maior frequência genotípica do heterozigoto AG 49,3% (3,6), não se diferenciando entre sexos. As frequências genotípicas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$), demonstrando que a frequência observada foi semelhante à esperada na população considerando as gerações.

Tabela 7 - Distribuição da população estudada segundo características antropométricas, clínicas e estilo de vida de acordo com o sexo. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013

Variáveis	Total		Sexo		Valor-p ^c
	n ^a	% ^b ± (EP)	Masculino % ^b ± (EP)	Feminino % ^b ± (EP)	
Estado Nutricional					
Baixo peso	38	5,2 (1,0)	5,0 (1,2)	5,3 (1,2)	0,119
Eutrofia	332	44,4 (2,0)	45,9 (2,9)	43,1 (2,9)	
Sobrepeso	264	31,0 (1,8)	33,5 (3,5)	28,9 (1,7)	
Obesidade	170	19,4 (1,7)	15,6 (2,5)	22,7 (1,9)	
Obesidade abdominal					
Não	537	73,2 (1,8)	84,2 (2,5)	63,4 (2,0)	<0,001
Sim	268	26,8 (1,8)	15,8 (2,5)	36,6 (2,0)	
Gordura corporal (%)					
Normal	320	50,9 (1,7)	51,8 (2,7)	50,1 (2,4)	0,658
Elevada	398	49,1 (1,7)	48,2 (2,7)	49,8 (2,3)	
Pressão Arterial					
Normal	476	65,1 (1,5)	56,9 (3,0)	65,4 (2,3)	0,913
Elevada	332	34,9 (1,5)	35,1 (3,0)	34,6 (2,3)	
Glicemia					
Normal	688	93,6 (0,01)	92,4 (0,01)	94,5 (0,01)	0,160
Elevada	60	6,4 (0,01)	7,6 (0,01)	5,5 (0,01)	
Tabagista					
Não	604	75,3 (1,8)	65,6 (3,5)	84,0 (1,8)	<0,001
Ex-tabagista	135	15,1 (1,2)	19,4 (2,0)	11,3 (1,4)	
Sim	69	9,5 (1,6)	14,9 (3,2)	4,7 (1,1)	
Consumo de álcool					
Não	246	65,8 (0,02)	57,9 (4,0)	72,9 (2,4)	<0,001
Sim	561	34,2 (0,02)	42,1 (4,0)	27,1 (2,4)	
Autorrelato de saúde					
Muito bom/ Bom	447	60,4 (1,8)	64,3 (3,4)	56,8 (2,2)	0,163
Regular	292	32,4 (1,8)	29,3 (2,8)	35,3 (1,8)	
Ruim/ Muito ruim	70	7,2 (1,0)	6,4 (1,5)	7,9 (1,0)	
Atividade Física					
Ativo	638	80,5 (2,1)	76,9 (3,3)	83,6 (1,9)	0,024
Sedentário	170	19,5 (2,1)	23,1 (3,3)	16,4 (1,9)	
Uso de medicamento					
Não	334	66,6 (1,8)	25,2 (2,5)	40,8 (2,2)	<0,001
Sim	472	33,4 (1,8)	74,8 (2,5)	59,2 (2,2)	

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: ^a n = valores amostrais. ^b Proporções populacionais. : ^cp<0,05 para a diferença entre sexo masculino e feminino (teste qui-quadrado).

Tabela 8 - Distribuição alélica, genotípica e das frequências observadas e esperadas do polimorfismo do LEPR Gln223Arg segundo sexo na população urbana de Montes Claros - Minas Gerais, 2012-2013

Variáveis	Total		Sexo		Valor-p ^c
	n ^a	% ^b ± (EP)	Masculino	Feminino	
			% ^b ± (EP)	% ^b ± (EP)	
Alelos					
A	961	63,6 (2,8)	63,9 (3,7)	65,0 (2,9)	0,223
G	563	36,4 (2,8)	39,1 (3,7)	35,0 (2,9)	
Genótipos					
AA	294	38,4 (3,2)	39,3 (3,8)	37,5 (3,7)	0,170
AG	373	49,3 (3,6)	46,2 (4,2)	52,1 (3,9)	
GG	95	12,3 (1,7)	14,4 (2,5)	10,4 (1,7)	
Genótipos	Frequência observada		Frequência esperada	χ^2	Valor-p ^e
AA ^d	38,4		39,8	0,337	0,561
AG	49,3		46,6		
GG	12,3		13,7		

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: ^a n = valores amostrais. ^b Proporções populacionais. ^cp<0,05 para a diferença entre sexo masculino e feminino (teste qui-quadrado). ^dAA: Homozigoto “selvagem”; AG: Heterozigoto; GG: Homozigoto variante; χ^2 : valor do qui-quadrado. ^eValor-p < 0,05 para diferenças entre frequência observada e esperada para verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A fim de investigar potenciais associações do genótipo LEP Gln223Arg, análises univariadas foram realizadas conforme dados da Tabela 9. Como pode ser observado, não foram encontradas associações significativas entre o genótipo e as variáveis, nem mesmo testando diferentes agrupamentos dos grupos de genótipo (AG + GG *versus* AA ou ainda GG *versus* AG + AA; dados não mostrados). Portanto, optou-se por mostrar os valores em três categorias.

Tabela 9 - Distribuição da população estudada segundo grupos de genótipos. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013

Variáveis	Genótipos				Valor-p ^c
	Total	AA	AG	GG	
	% ^b ± (EP)				
Estado Nutricional					
Baixo peso	5,2 (1,0)	4,6 (1,3)	6,2 (1,7)	2,6 (1,6)	0,423
Eutrofia	45,3 (2,0)	44,6 (3,5)	43,7 (3,1)	53,6 (6,4)	
Sobrepeso	30,9 (1,7)	29,4 (2,4)	32,1 (2,7)	30,6 (4,9)	
Obesidade	19,7 (1,4)	21,5 (2,4)	17,9 (2,3)	13,0 (3,1)	
Obesidade abdominal					
Não	74,1 (1,7)	70,9 (3,4)	75,2 (2,2)	79,5 (3,5)	0,224
Sim	25,9 (1,7)	29,1 (3,4)	24,8 (2,2)	20,5 (3,5)	
Gordura corporal (%)					
Normal	51,8 (1,7)	49,2 (2,8)	52,3 (2,8)	57,9 (1,7)	0,444
Elevada	48,1 (1,7)	50,8 (2,8)	47,6 (2,8)	48,1 (1,7)	
Glicemia (mg/dL)					
Normal	93,6 (0,01)	92,8 (0,01)	93,8 (0,01)	94,9 (0,01)	0,728
Alterada	6,4 (0,01)	7,1 (0,01)	6,1 (0,01)	5,0 (0,01)	
Pressão arterial (mmHg)					
Normal	64,9 (1,5)	63,7 (2,6)	66,0 (1,8)	64,4 (5,1)	0,791
Elevada	35,1 (1,5)	36,3 (2,6)	34,0 (1,8)	35,6 (5,1)	

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: ^a n = valores amostrais. ^b Proporções populacionais. ^c p<0,05 para a diferença entre sexo masculino e feminino (teste qui-quadrado).

Em relação às análises multivariadas, os diferentes desfechos de excesso de peso foram comparados ao genótipo, usando as estimativas do valor da razão de prevalências não ajustada e ajustada, como pode ser observado na Tabela 10. Não foram observadas associações entre o genótipo e os desfechos de excesso de peso, mesmo quando ajustadas por potenciais variáveis de confusão, como idade, sexo, fumo, ingestão habitual de bebidas alcólicas, escolaridade e história familiar de obesidade parental.

Tabela 10 - Associação do polimorfismo LEPR Gln223Arg e indicadores de excesso de peso. Montes Claros, Minas Gerais, 2012-2013

Genótipo	RP	IC95%	Valor-p	RP ajustada ^a	IC95%	Valor-p
Sobrepeso (IMC\geq25Kgm²)						
GG	1	-		1	-	
AG	1,14	0,81-1,60	0,423	1,15	0,86-1,54	0,318
AA	1,16	0,82-1,63	0,372	1,14	0,86-1,52	0,342
Obesidade (IMC\geq30Kgm²)						
GG	1	-		1	-	
AG	1,37	0,77-2,42	0,264	1,38	0,75-2,53	0,283
AA	1,64	0,95-2,84	0,072	1,61	0,96-2,72	0,068
Obesidade abdominal (CA \geq 88 cm para mulheres e \geq 102 cm para homens)						
GG	1	-		1	-	
AG	1,21	0,82-1,78	0,323	1,14	0,77-1,67	0,495
AA	1,42	0,91-2,22	0,117	1,28	0,86-1,91	0,209
Porcentagem de gordura corporal (%GC \geq 20 homens e \geq 30% nas mulheres)						
GG	1	-		1	-	
AG	1,13	0,79-1,60	0,481	1,16	0,87-1,56	0,289
AA	1,20	0,84-1,72	0,295	1,20	0,90-1,59	0,192

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: RP: Razão de prevalência. IMC: Índice de Massa Corporal. CA: Circunferência abdominal. %GC: Percentual de gordura corporal. ^a Ajustado por idade, sexo, fumo (sim/ex-fumante/não), ingestão habitual de bebidas alcoólicas (sim/não), escolaridade (anos) e história familiar de obesidade parental.

5 DISCUSSÃO

5.1 Herdabilidade, Correlações Genéticas e Ambientais de Fenótipos Cardiometabólicos em Áreas Rurais, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais

Neste estudo, foram estimadas as herdabilidades de níveis lipídicos, IMC, circunferência abdominal e níveis pressóricos, utilizando também o método de componentes de variância multivariado para cálculo das correlações genéticas e ambientais. Essas estimativas explicam o percentual da variação do traço resultante do efeito poligênico aditivo.

Foi observada neste estudo herdabilidade moderada para fenótipos cardiometabólicos. Os menores valores de estimativas foram encontrados para níveis pressóricos ($h^2 \sim 0,30$) e níveis lipídicos ($h^2 \sim 0,40$), enquanto que as maiores estimativas foram encontradas entre os indicadores de adiposidade ($h^2 \sim 0,60$).

Portanto, todos os traços considerados na análise mostram evidências de agregação familiar com outros estudos de família (MITCHELL *et al.*, 1996; NORTH *et al.*, 2003, BOCHUD *et al.*, 2005; KULLO *et al.*, 2005; LIN *et al.*, 2005; TANG *et al.*, 2006; ZABANEH *et al.*, 2009; DIVERS *et al.*, 2010; BIINO *et al.*, 2013).

A mais interessante evidência para justificar a análise genética dos níveis lipídicos é compreender que são fatores de risco importantes para o desenvolvimento e progressão da síndrome metabólica e doenças crônicas, como doenças cardiovasculares e diabetes. Existe uma grande variação nos valores de herdabilidade para fenótipos relacionados aos níveis lipídicos na literatura. Na maioria das vezes, os dados são apresentados como componentes da síndrome metabólica por estarem incorporados nos critérios de diagnóstico dessa síndrome (MAYER *et al.*, 1996; WANG *et al.*, 2009), diabetes *mellitus* (FREEMAN *et al.*, 2002; GARVEY *et al.*, 2003; DIVERS *et al.*, 2010) ou relacionadas às doenças cardiovasculares como hipertensão (PAUSOVA *et al.*, 2001; SNIEDER *et al.*, 2003; HSU *et al.*, 2005).

Entre os estudos encontrados na literatura em diferentes populações e regiões no mundo (Quadros 1 e 2), as estimativas de herdabilidade variaram de 19% a 56% para triglicerídeos, de 29% a 62% para HDL, de 29% a 53% para colesterol total e de 26% a 42% para LDL (MITCHELL *et al.*, 1996; FREEMAN *et al.*, 2002; CHIEN *et al.*, 2003; McQUEEN *et al.*, 2003; NORTH *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2005; PILIA *et al.*, 2006; BOSY-WESTPHAL *et al.* 2007; BASTARRACHEA *et al.* 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008; TANG *et al.*, 2006; ZABANEH *et al.*, 2009; VATTIKUTI *et al.*, 2012).

Dentre os indicadores de excesso de peso, o IMC é o fenótipo antropométrico mais amplamente analisado e demonstra grande variação entre os estudos (30% a 80%), assim como a circunferência abdominal (CA), que varia de 17% a 54% (CHIEN *et al.*, 2003; LIN *et al.*, 2005; DE OLIVEIRA *et al.*, 2008), chegando a 75% em estudos de gêmeos (LEE *et al.*, 2010).

Adicionalmente, as pressões diastólica e sistólica foram avaliadas, e os resultados foram similares a outros estudos (NORTH *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2008), embora esses valores também mostrem grande variação na literatura, sendo de 16% a 46% para pressão arterial sistólica e de 21% a 34% para pressão arterial diastólica (MAHANEY *et al.*, 1995; FREEMAN *et al.*, 2002; CHIEN *et al.*, 2003; NORTH *et al.*, 2003; FAVA *et al.*, 2004; BOCHUD *et al.*, 2005; LIN *et al.*, 2005; NORTH *et al.*, 2006; PILIA *et al.*, 2006; TANG *et al.*, 2006; BOSY-WESTPHAL *et al.*, 2007; BASTARRACHEA *et al.*, 2007; CHIEN *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008; ZABANEH *et al.*, 2009; VATTIKUTI *et al.*, 2012; BIINO *et al.*, 2013).

São escassos os estudos genéticos quanto à herdabilidade no Brasil. Mesmo após extensa revisão de literatura, poucos estudos foram encontrados. Somente dois foram relacionados aos estudos de família envolvendo fatores cardiometabólicos, sendo o primeiro em Baependi - MG (OLIVEIRA *et al.*, 2008), relacionado à síndrome metabólica, e o segundo em Niterói (MIRANDA CHAGAS *et al.*, 2011), com níveis lipídicos em população atendida pelo Programa de Saúde da Família, ambos em área urbana. Os outros poucos estudos genéticos de família foram realizados quanto à herdabilidade, investigando infecções por esquistossomose em Governador Valadares (BETHONY *et al.*, 2001) e em área rural de Salvador (GRANT *et al.*, 2008) ou ancilostomíase (QUINNELL *et al.*, 2010), em Americaninhas, norte de Minas Gerais. Para o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo com fatores cardiometabólicos em área rural em estudo de família no Brasil.

Vale ressaltar que, para a localidade de Virgem das Graças, os fenótipos lipídicos foram mostrados em publicação prévia do grupo de pesquisa (VELASQUEZ-MELENDZ *et al.*, 2007b). Este estudo é uma ampliação desse primeiro realizado contemplando outras duas comunidades (Caju e São Pedro do Jequitinhonha), incorporando os fenótipos coletados nas últimas linhas de base.

Retomando os estudos nacionais com o foco de interesse, o estudo de Oliveira *et al.* (2008) mostrou herdabilidades pouco menores para as pressões arterial sistólica ($h^2 = 31\%$) e diastólica ($h^2 = 28\%$), considerando os modelos ajustados.

Quando analisadas as herdabilidades para níveis lipídicos, os autores encontraram valores menores, sendo HDL ($h^2 = 32\%$) e triglicérides ($h^2 = 28\%$), enquanto no presente estudo os valores ficaram em torno de 40% ou superior. Nesse mesmo sentido, a herdabilidade para CA foi de 40% no estudo anterior, enquanto no presente estudo foi de 60%.

Essas diferenças sugerem que a estimativa da variância genética pode mudar, por exemplo, se as frequências alélicas se alterarem (devido à seleção ou endogamia), ou, ainda, se novas variantes entram na população por migração ou mutação (MANOLIO *et al.*, 2009; MINIHANE, 2013; VISSCHER *et al.*, 2008).

Adicionalmente, um mesmo fenótipo medido ao longo da vida de um indivíduo pode apresentar diferentes efeitos genéticos e ambientais de modo a que as variâncias podem não se manter constantes pela influência dos fatores genéticos e ambientais ao longo da vida (VISSCHER *et al.*, 2008).

De fato, a herdabilidade reflete possíveis contribuições genéticas para variâncias fenotípicas, sendo o primeiro passo para justificar esforços de se realizar análises genéticas mais avançadas sobre fatores de risco das doenças crônicas conforme discutido anteriormente. Entretanto, vale a pena ressaltar que a herdabilidade é um fenômeno específico de cada população, ou seja, os valores de herdabilidade podem variar segundo modificações ambientais entre populações e temporais em uma mesma população (MANOLIO *et al.*, 2009; MINIHANE, 2013).

Outra justificativa para a diferença dos valores de herdabilidade entre os estudos inclui o conceito de herdabilidade faltante ou *missing heritability*, que é considerada um problema, uma vez que genes individuais não justificam grande parte da herdabilidade das doenças, comportamentos e outros fenótipos avaliados (MANOLIO *et al.*, 2009). Por exemplo, um dos resultados mais surpreendentes dos estudos GWAS tem sido que eles uniformemente encontram apenas SNPs de efeito muito pequeno, e mesmo a soma dos efeitos de todas as associações de SNP que são encontrados normalmente na literatura explica apenas um pequeno percentual do total da variância genética (MANOLIO *et al.*, 2009; SPEICHER *et al.*, 2010).

Portanto, esse é um problema que tem implicações significativas para a saúde pública, uma vez que a susceptibilidade de uma pessoa à doença pode depender mais do efeito combinado de genes muitas vezes não relacionados inicialmente ou de modificações epigenéticas. Assim, a maioria dos estudos encontram valores elevados de herdabilidade, enquanto os estudos mais avançados encontram fraca ou falta de associação nos estudos de polimorfismos genéticos, haplótipos ou de larga escala, como o GWAS (MANOLIO *et al.*, 2009, MINIHANE, 2013).

Além da herdabilidade, a análise de pleiotropia é uma estratégia que correlaciona dois fenótipos sugerindo a existência de ligação genética na regulação dos mesmos, isto é, mostra a existência de fenótipos que são regulados, totalmente ou em parte, pelos mesmos genes (ALMASY *et al.*, 1997).

Essas relações podem ser úteis na identificação de *loci* responsáveis por essas associações entre fenótipos de suscetibilidade a doenças crônicas e, ainda, poderia ajudar na elucidação da arquitetura genética desses traços (KULLO *et al.*, 2005).

Foi encontrada pleiotropia incompleta para a maioria dos pares de fenótipos avaliados, seja entre lipídeos ou entre indicadores de excesso de peso e lipídeos. Como o teste é baseado na hipótese de pleiotropia completa, por isso valor-p diferente de \pm um, os resultados indicam que efeitos por genes não compartilhados adicionais contribuem para os fenótipos avaliados (EDWARDS *et al.*, 1999).

Além da pleiotropia incompleta, foi encontrada pleiotropia completa entre níveis de triglicérides e VLDL, isso significa que um mesmo gene ou conjunto de genes é responsável por esses fenótipos (SIVAKUMARAN *et al.*, 2011). As evidências de pleiotropia são abundantes e comuns entre traços e, conseqüentemente, entre fenótipos cardiometabólicos, tendo implicações no desenvolvimento de alvos moleculares para desenvolvimento de drogas ou determinação do perfil genético de risco (EDWARDS *et al.*, 1999; SIVAKUMARAN *et al.*, 2011).

Contudo, dada a importância das doenças crônicas na saúde pública, a tentativa de identificar variação genética subjacente à suscetibilidade dos fatores de risco é um passo fundamental para a compreensão da patogênese de doenças cardiovasculares melhorando as estratégias de prevenção e tratamento (NOLAN *et al.*, 2013).

Os pedigrees avaliados no presente estudo foram compostos por grande número de membros e alto nível de parentesco, sendo essa característica interessante para futuros estudos. Uma das vantagens é que os estudos baseados em família são uma grande oportunidade para a investigação das doenças complexas por causa da maior facilidade na detecção de variantes raras, uma vez que as mesmas podem ser mais facilmente observadas nos parentes afetados (OTT *et al.*, 2011; IONITA-LAZA; OTTMAN, 2011).

Assim, esse tipo de estudo tem potencial para melhorar a compreensão da contribuição genética nas doenças crônicas e pode ser usado em estudos de ligação e associação (SHIFMAN; DARVASI, 2001; VARILO; PELTONEN, 2004), como, por exemplo, confirmando resultados dos estudos GWAS (VOHNOUT *et al.*, 2011) ou auxiliando na identificação das interações entre genes (ABECASIS *et al.*, 2002).

5.2 Frequência do Polimorfismo Gln223Arg e sua Associação com Fenótipos Cardiometabólicos

Neste estudo de base populacional, foram estimadas as frequências do polimorfismo LEPR Gln223Arg e suas potenciais associações com fenótipos cardiometabólicos relacionados ao excesso de peso. Este é o primeiro estudo de base populacional descrevendo o genótipo do LEPR Gln223Arg em populações saudáveis no Brasil. A população foi composta por 49,1% de homens e 51,6% de mulheres, principalmente por jovens adultos e não brancos. Foram observados baixos níveis de analfabetismo, alto percentual de participantes na classe socioeconômica C, sendo o setor privado o maior empregador dessa população. A composição sociodemográfica da população de Montes Claros assemelhou-se à brasileira, principalmente em relação às frequências de faixas etárias, cor de pele e escolaridade (IBGE, 2010b).

Em relação aos fatores de risco cardiovasculares, foi observado que 34,4% referiam ingerir frequentemente bebida alcoólica e 9,5% relataram tabagismo atual. Dados do 1º Levantamento sobre Padrões de Consumo de Álcool na População Brasileira mostrou que 24% da população bebe frequentemente (pelo menos uma vez por semana), sendo que 40% dos homens e 18% das mulheres relataram consumir de forma abusiva sendo cinco ou mais doses de bebidas alcoólicas (homens) e quatro ou mais doses (mulheres) (LARANJEIRA *et al.*, 2007).

Adicionalmente, na Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (2008), foi observado que 17,5% da população brasileira era tabagista, sendo 22,0% dos homens e 13,3% das mulheres, sendo os dados do presente estudo menores que os dados nacionais (PNAD, 2008).

Segundo o Vigitel (2012), a prevalência de ingestão excessiva de álcool no Brasil foi de 18%, sendo maior nos homens (26,6%) que nas mulheres (10,3%), e 12,1% eram tabagistas (14,3% dos homens e 9,2% das mulheres), assemelhando-se aos dados do presente estudo. Apesar de parecer que Montes Claros apresenta maior frequência de ingestão de bebida alcoólica, a metodologia do Vigitel utilizou o consumo abusivo, enquanto que o presente estudo avaliou a ingestão habitual, justificando as diferenças.

A frequência de sedentarismo na população avaliada foi de 19,5%. A inatividade física é um dos fatores de risco para a obesidade, e a literatura mostra grande diversidade nas frequências e nos instrumentos de aferição (DUMITH, 2009). Estudos de Matsudo *et al.* (2004), avaliando a população de São Paulo, constataram 8,8% de indivíduos sedentários e 37,6% irregularmente ativos (não atinge as recomendações).

No estudo Vigitel (2012), considerando-se o conjunto da população adulta das cidades estudadas, 33,5% atingiram o nível recomendado de atividade física no tempo livre, sendo maior entre os homens (41,5%) do que entre as mulheres (26,5%). Ao considerar a cidade de Belo Horizonte, a frequência do sedentarismo na população de Belo Horizonte foi 13,2% (VIGITEL, 2012). Essas diferenças podem ser em relação aos métodos de classificação do nível de atividade física, principalmente no tocante ao número de domínios avaliados.

Quanto ao estado nutricional, a frequência do sobrepeso foi de 31% e 19,4% de obesidade, totalizando 50,4% da população em excesso de peso. Dados do Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008-2009) mostraram que o excesso de peso em homens adultos aumentou nos últimos anos e mais da metade dos homens estava com excesso de peso (50,1%), enquanto 48% das mulheres estavam nessa condição. Mais recentemente, o Vigitel (2012) confirmou essa frequência elevada de excesso de peso: 51,0% da população brasileira com excesso de peso, sendo 54,5% nos homens e 48,1% nas mulheres (VIGITEL, 2012), corroborando com o presente estudo.

No presente estudo, 26,8% dos indivíduos avaliados apresentaram alteração na medida de CA, sendo que 15,8% dos homens e 36,6% das mulheres estavam com obesidade abdominal ($p < 0,001$). Esse indicador de excesso de peso é associado à mortalidade, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensão, entre outros (WHO, 2008).

Metanálise recentemente publicada com avaliação dos indicadores de excesso de peso em 689.465 indivíduos confirma a importância de se investigar os mesmos por sua relação direta com mortalidade, em quaisquer níveis de observação, como obesidade geral ou a própria obesidade abdominal, a qual permaneceu significativa mesmo após ajustes (CARMLENKE *et al.*, 2013).

Entre os poucos estudos populacionais (representativos), foi observada prevalência de obesidade abdominal de 6% dos adultos entre 18 e 24 anos e 43% entre 55 a 74 anos em estudo do *National Health and Nutrition Examination Survey*, que avaliou 9.148 adultos americanos (KAHN; VALDEZ, 2003). No mesmo sentido, estudo nacional de saúde no Canadá registrou que 32,5% das mulheres e 43,10% dos homens em indivíduos de 18 a 79 anos estavam com obesidade abdominal (SHIELDS, *et al.*, 2012).

Ainda, em estudo representativo em 1.580 adultos de 25 a 59 anos do estado de Pernambuco, foi observado prevalência de obesidade abdominal de 27,1% nos homens e 69,9% nas mulheres. Entretanto, vale ressaltar que o estudo supracitado utilizou como ponto de corte ≥ 80 cm (PINHO *et al.*, 2013).

Por fim, estudo realizado com dados representativos de mulheres brasileiras, da Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (2006) verificou circunferência da cintura ($\geq 80\text{cm}$) em 24,2% e ($\geq 88\text{cm}$) em 29,9% das mulheres brasileiras, demonstrando também elevada prevalência desse fenótipo (FELISBINO-MENDES, 2013).

No presente estudo, foi encontrada 50% da população com percentual de gordura corporal (%GC) elevado. O %GC também é considerado uma importante medida a fim de melhor determinar a composição corporal, uma vez que permite a distinção da massa gorda da massa livre de gordura, além de estar bem correlacionado com outros indicadores de excesso de peso (FLEGAL *et al.*, 2009).

Em estudo realizado com população urbana no norte da Índia foi observada frequência de %GC elevada em 10,6% dos homens e 40,2% das mulheres (MISRA *et al.*, 2001). Estudo de base populacional na Alemanha utilizando a bioimpedância elétrica mostrou média de %GC aproximadamente de 29% em homens e 39% nas mulheres (JOURDAN *et al.* 2012). Quanto aos estudos nacionais, Anjos *et al.* (2013) avaliaram população de Niterói e encontraram valores médios de %GC de 38% nas mulheres e 22,1% nos homens, respectivamente.

Por outro lado, estudo de base populacional realizado em Florianópolis com 1720 adultos mostrou que 37,6% das mulheres e 39% dos homens estavam com %GC elevado, calculado a partir de fórmulas baseadas no IMC (SILVA *et al.*, 2012), sendo essas menos precisas quando comparadas às outras ferramentas utilizadas na literatura.

Quanto ao polimorfismo LEPR Gln223Arg, foi observada frequência alélica de 63,6% de A e 36,4% G, sendo semelhante a outros estudos (QUINTON *et al.*, 2001; MATTEVI *et al.*, 2002; DUARTE *et al.*, 2007; SANTOS, 2007; Riestra *et al.*, 2010). Entretanto, outros estudos demonstraram frequências alélicas diferentes, sendo 12,8% de A e 87,2% de G (MATSUOKA *et al.*, 1997) em japoneses ou 53% de A e 22% de G em indianos (MURUGESAN *et al.*, 2010).

Os genótipos, por sua vez, demonstraram frequências de 38,4% de AA, 49,3% de AG e 12,3% de GG. No que tange à literatura, os resultados são bem discrepantes (Quadro 3), variando de 1,2% a 75% para GG, 16,7% a 60% de AG e 19% a 83,3% de AA, estando o presente estudo dentro das faixas de variação observadas na literatura (MATSUOKA *et al.*, 1997; CHAGNON *et al.*, 1999; CHAGNON *et al.*, 2000; ROSMOND *et al.*, 2000; UKKOLA *et al.*, 2000; QUINTON *et al.*, 2001; WAUTERS *et al.*, 2001a; YIANNAKOURIS *et al.*, 2001; MATTEVI *et al.*, 2002; SALOPURO *et al.*, 2005; VAN DER VLEUTEN *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2006; DUARTE *et al.*, 2007; MERGEN *et al.*, 2007; POPKO *et al.*, 2007; SANTOS, 2007; MASUO *et al.*, 2008; BEN ALI *et al.*, 2009; BIENERTOVÁ-VAŠKŮ *et al.*, 2009;

BIENERTOVA-VASKU *et al.*, 2010; HUUSKONEN *et al.*, 2010; MURUGESAN *et al.*, 2010; SILVA, 2010; ANGELI *et al.*, 2011; LABAYEN *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011; BECER *et al.*, 2013). Esse fato se deve à variação das populações estudadas na literatura e às diversas etnias com proporções diferentes de alelos e genótipos para o polimorfismo estudado (RAGIN *et al.*, 2009).

De forma mais detalhada, Ragin *et al.* (2009) realizaram estudo de frequência do polimorfismo do receptor de leptina em 1418 indivíduos saudáveis de várias etnias (africana, afro-americana, África - caribenha, caucasianas, asiáticas) e a frequência total independente da etnia foi de 31% de AA, 50% de AG e 19% de GG. Apesar de os indivíduos serem considerados saudáveis, o estudo supracitado coletou um *pool* de dados de diversos estudos caso-controle sobre câncer, infecção por HIV, ou, ainda, mulheres recrutadas para estudo de densidade mamográfica ou de marcadores hormonais.

Essas diferenças com o presente estudo podem ser explicadas pelas dessemelhanças na proporção de etnias em diversas regiões no qual os estudos foram realizados, bem como com o nível de miscigenação em cada população.

No caso do presente estudo, a população foi composta por 82,3% não brancos, assemelhando-se mais à distribuição genotípica de afro-caribenhos sendo 13,4% de GG, 51,5% de AG e 35,1% de AA (RAGIN *et al.*, 2009). Historicamente, o Brasil sofreu grande miscigenação por receber milhões de europeus nos séculos XIX e XX, e anteriormente, em meados do século XVI, milhões de africanos trazidos para trabalhar nas fazendas e posteriormente na extração do ouro e diamante, principalmente em Minas Gerais (IBGE, 2010b), podendo ser considerada a população mais miscigenada do mundo (PENA *et al.*, 2011).

Entre os estudos encontrados na população brasileira, a frequência genotípica do presente estudo foi semelhante ao estudo de Mattevi *et al.* (2002) em população descendente de europeus no sul do país e ao estudo de Duarte *et al.* (2007) com população do Rio de Janeiro. Entretanto, o estudo de Silva (2010) demonstrou frequência diferenciada de 27,4% de AA e 17,9% de GG, quando avaliou mulheres obesas acompanhadas por ambulatório de obesidade em São Paulo. Por causa da extensão e do nível de miscigenação, algumas regiões do país podem apresentar uma uniformidade da estimativa de ancestralidade maior que a esperada, dependendo da região avaliada (PENA *et al.*, 2011).

O polimorfismo LEPR Gln223Arg é extensivamente investigado na literatura em diversas populações e comparado a diferentes fenótipos, sendo ainda contraditórios os resultados na literatura que abordam os fenótipos cardiometabólicos relacionados ao excesso de peso.

Diversos autores constataram a relação do LEPR Gln223Arg com IMC ou da massa gorda elevados (CHAGNON *et al.*, 2000; QUINTON *et al.*, 2001; YIANNAKOURIS *et al.*, 2001; DUARTE *et al.*, 2007; BEN ALI *et al.*, 2009; RIESTRA *et al.*, 2010; SILVA, 2010; WALSH *et al.*, 2012), ganho de peso (FURUSAWA *et al.*, 2010), com obesidade abdominal (WAUTERS *et al.*, 2001a; BECER *et al.*, 2013), triglicérides ou LDL elevados (UKKOLA; BOUCHARD, 2004; POPKO *et al.*, 2007), hipercolesterolemia (VAN DER VLEUTEN *et al.*, 2006; BIENERTOVÁ-VAŠKŮ *et al.*, 2009) ou ainda a interação com outros polimorfismos (ANGELI *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011).

Entretanto, no presente estudo (Tabela 9), não houve diferenças nas frequências dos indicadores de excesso de peso segundo grupos de genótipos, mesmo após ajuste. Esse achado corrobora com os autores que investigaram fenótipos cardiometabólicos relacionados ao excesso de peso em diferentes populações conforme demonstrado nos Quadros 3 e 4 (BRUCE THOMPSON *et al.*, 1997; MATSUOKA *et al.*, 1997; CHAGNON *et al.*, 1999; CHAGNON *et al.*, 2000; WAUTERS *et al.*, 2001b; SALOPURO *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2006; SANTOS, 2007; BIENERTOVÁ-VAŠKŮ *et al.*, 2009; HUUSKONEN *et al.*, 2010; MURUGESAN *et al.*, 2010; SILVA, 2010; ANGELI *et al.*, 2011; LABAYEN *et al.*, 2011).

Em relação aos estudos de associação com população brasileira, Duarte *et al.* (2002) estudaram 350 indivíduos com e sem obesidade e foi observada frequência de 73% dos indivíduos com genótipo AG+GG obesos *versus* 63% nos não obesos ($p=0,03$). A mesma tendência foi encontrada no estudo de Mattevi *et al.* (2002) que avaliaram 336 indivíduos e encontraram frequências maiores de GG (18%) nos indivíduos com excesso de peso do que nos eutróficos (8%; $p<0,01$).

Silva (2010) realizou estudo de intervenção do impacto da dieta e treinamento físico em mulheres obesas, observou melhoria no perfil das variáveis antropométricas após dieta e atividade física, mas não se alteraram de acordo com as variantes genéticas. Estudo realizado em Passo Fundo-RS também não encontrou associação do polimorfismo em questão e o IMC (SANTOS, 2007), corroborando com o presente estudo.

Para melhor visualização dos dados da literatura (Quadro 3) dos 12 principais artigos encontrados em adultos com os mesmos desfechos avaliados no presente estudo, sete não encontraram associação entre o polimorfismo da leptina e indicadores de sobrepeso, e somente o estudo de Chagnon *et al.* (2000) obteve um número comparativo de avaliados, embora nenhum deles tenha sido desenhado para a observação da prevalência desse polimorfismo.

Em estudos de metanálise, Yang *et al.* (2011), avaliando população chinesa, encontrou efeito protetor para o alelo G ou para os genótipos AG+GG. Entretanto, em outras duas metanálises encontradas, Bender *et al.* (2011) e Heo *et al.* (2001) não encontraram associação entre os estudos revisados e os desfechos de sobrepeso ou avaliando IMC e circunferência abdominal respectivamente, concordando com os resultados do presente estudo.

Como pode ser observado, os dados da literatura são contraditórios. Os estudos supracitados justificam as inconsistências por causa das potenciais variáveis de efeito modificador estudadas, como sexo, estratificação da população, estado de saúde que parecem influenciar nas diversas associações encontradas nos mesmos (HEO *et al.*, 2001; BENDER *et al.*, 2011). As interações com outros polimorfismos, por sua vez, também podem explicar a existência em algumas associações encontradas na literatura (PEREIRA *et al.*, 2011), principalmente em termos de população mais específica nos estudos caso-controle.

A ausência de associação pode ser também devido à complexa etiogênese dos indicadores de adiposidade elevados, uma vez que a atual epidemia de obesidade resulta de uma combinação de fatores genéticos complexos e de um ambiente obesogênico (LOOS; BOUCHARD, 2003). Levando em consideração a complexidade metabólica no contexto da epigenética, o ambiente parece contribuir de forma mais evidente para o controle dos fenótipos cardiometabólicos complexos (BENDESKY; BARGMANN, 2011; VETTER *et al.*, 2013).

Vale ressaltar que a análise de SNP é considerada menos informativo por se restringir à avaliação da substituição de bases do DNA, não avaliando, portanto, processos que envolvem mecanismos pós-transcricionais e pós-traducionais, os quais também podem modificar a resposta biológica (SPEICHER *et al.*, 2010). Isso implica que um SNP sozinho tem pouca habilidade para prever um fenótipo. Por fim, a heterogeneidade e as modificações epigenéticas podem responder por parte das contradições da literatura (MANOLIO *et al.*, 2009; MINIHANE, 2013).

Outras justificativas podem ser dadas à falta de associação, em que um pequeno número de polimorfismos tem sido consistentemente replicado e poucas variantes demonstram consistência de significância estatística em diferentes populações (HINNEY *et al.*, 2010). Em contraposição, tem sido também atribuído ao baixo poder estatístico (PEREIRA *et al.*, 2009) limitada cobertura do genoma ou presença de vieses com grande heterogeneidade entre os estudos (MCCARTHY *et al.*, 2008).

Estudos com amostras representativas são necessárias para o entendimento mais amplo dessas relações genéticas nas populações humanas. Assim, o presente estudo assume uma importância epidemiológica de destaque, uma vez que não foram encontrados estudos que objetivaram a avaliação de populações saudáveis em estudos de base populacional no Brasil utilizando-se de amostra probabilística com a finalidade de determinação da prevalência do polimorfismo LEPR Gln223Arg.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No estudo da área rural, dentro da estratégia de análise de herdabilidade, os dados mostraram que diversos fenótipos cardiometabólicos possuem herdabilidade moderada em diferentes níveis e pleiotropia completa entre triglicérides e VLDL e pleiotropia incompleta em outros diversos pares de fenótipos, reforçando a hipótese de que um conjunto de genes com fenótipos avaliados tem potencial efeito no metabolismo dos mesmos e pode contribuir substancialmente para o desenvolvimento de doenças crônicas.

Quanto ao estudo do polimorfismo do LEPR Gln223Arg em área urbana de Montes Claros, pode-se observar elevada frequência do fenótipo de sobrepeso, obesidade e hipertensão na população avaliada. Entretanto, não foi observada associação do polimorfismo LEPR Gln223Arg com os indicadores de excesso de peso estudados.

O conhecimento das estimativas de herdabilidade dos principais fatores de risco cardiometabólicos e suas relações pleiotrópicas entre eles podem ajudar a melhor direcionar estudos de localização de vias metabólicas que se relacionam à sua expressão fenotípica e seu impacto nos desfechos aos quais estão relacionados. Por outro lado, as estimativas populacionais de polimorfismos de receptores hormonais podem prover informações importantes para o entendimento da epidemia de expressivos fenótipos cardiometabólicos como o sobrepeso e a obesidade.

REFERÊNCIAS

ABALLAY LR, EYNARD AR, DÍAZ MDP, NAVARRO A, MUÑOZ SE.. Overweight and obesity: a review of their relationship to metabolic syndrome, cardiovascular disease, and cancer in South America. **Nutrition Reviews**, v. 71, p. 168-179, 2013.

ABECASIS, G. R., CHERNY, S. S., COOKSON, W. O.; CARDON, L. R. Merlin-rapid analysis of dense genetic maps using sparse gene flow trees. **Nature Genetics**. v. 30, n.1, p. 97-101, 2002.

ABEP -ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA CRITÉRIO DE CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA BRASIL – Dados com base no Levantamento Sócio Econômico 2006 e 2007 – IBOPE. Disponível em: < <http://www.abep.org>> Acesso em: 15 de dezembro de 2013.

ABERNATHY, R. P.; BLACK, D. R. Healthy body weights: an alternative perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 63, n. 3, p. 448S-451S, 1996.

ADEYEMO, A. A., OMOTADE, O. O., ROTIMI, C. N., LUKE, A. H., TAYO, B. O. e COOPER, R. S. Heritability of blood pressure in Nigerian families. **Journal of Hypertension**. v. 20, n. 5, p. 859-863, 2002.

AHIMA, R. S., PRABAKARAN, D., MANTZOROS, C., QU, D., LOWELL, B., MARATOS-FLIER, E., *et al.* Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature**. v. 382, n. 6588, p. 250-252, 1996.

ALMASY, L., DYER, T. D.; BLANGERO, J. Bivariate quantitative trait linkage analysis: Pleiotropy versus co-incident linkages. **Genetic Epidemiology**. v. 14, n. 6, p. 953-958, 1997.

ALMASY, L.; BLANGERO, J. Multipoint Quantitative-Trait Linkage Analysis in General Pedigrees. **American Journal of Human Genetics**. v. 62, n. 5, p. 1198-1211, 1998.

ALMASY, L. The role of phenotype in gene discovery in the whole genome sequencing era. **Human Genetics**. v. 131, n. 10, p. 1533-1540, 2012.

ANGELI, C. B., KIMURA, L., AURICCHIO, M. T., VICENTE, J. P., MATTEVI, V. S., ZEMBRZUSKI, V. M., *et al.* Multilocus Analyses of Seven Candidate Genes Suggest Interacting Pathways for Obesity-Related Traits in Brazilian Populations. **Obesity (Silver Spring)**. v. 19, n. 6, p. 1244-1251, 2011.

ANJOS, L. A. D., TEIXEIRA, F. D. C., WAHRLICH, V., VASCONCELLOS, M. T. L. D. e GOING, S. B. Body fat percentage and body mass index in a probability sample of an adult urban population in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 29, n. p. 73-81, 2013.

BARROS, A.; HIRAKATA, V. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. **BMC Medical Research Methodology**. v. 3, n. 1, p. 21, 2003.

BASTARD J, MAACHI M, LAGATHU C, KIM M, CARON M, VIDAL H, CAPEAU J, FEVE B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network**. 17: 4-12, 2006.

BASTARRACHEA, R.A; KENT JR; J.W; ROZADA, G; COLE; LOPES-ALVARENGA, J.C.; ARADILLAS, C. *et al.* Heritability and Genetic Correlations of Metabolic Disease-Related Phenotypes in Mexico: Preliminary Report from GEMM Family Study. **Human Biology**. v.79, n. 1, p. 121-129, 2007.

BATES, S. H.; MYERS, M. G. The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**. v. 14, n. 10, p. 447-452, 2003.

BECER, E., MEHMETÇIK, G., BAREKE, H.; SERAKİNCİ, N. Association of leptin receptor gene Q223R polymorphism on lipid profiles in comparison study between obese and non-obese subjects. **Gene**. v. 529, n. 1, p. 16-20, 2013.

BEN ALI, S., KALLEL, A., SEDIRI, Y., FTOUHI, B., FEKI, M., SLIMENE, H., *et al.* LEPR p.Q223R Polymorphism Influences Plasma Leptin Levels and Body Mass Index in Tunisian Obese Patients. **Archives of Medical Research**. v. 40, n. 3, p. 186-190, 2009.

BENDER, N., ALLEMANN, N., MAREK, D., VOLLENWEIDER, P., WAEBER, G., MOOSER, V., *et al.* Association between Variants of the Leptin Receptor Gene and Overweight: A Systematic Review and an Analysis of the CoLaus Study. **PLoS ONE**. v. 6, n. 10, p. e26157, 2011.

BENDESKY, A.; BARGMANN, C. I. Genetic contributions to behavioural diversity at the gene–environment interface. **Nature Reviews Genetic**. v. 12, n. 12, p. 809-820, 2011.

BETHONY, J., GAZZINELLI, A., LOPES, A., PEREIRA, W., ALVES-OLIVEIRA, L., WILLAMS-BLANGERO, S., *et al.* Genetic epidemiology of fecal egg excretion during *Schistosoma mansoni* infection in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 96, n. p. 49-55, 2001.

BHOPAL, R. S. A four-stage model explaining the higher risk of type 2 diabetes mellitus in South Asians compared with European populations. **Diabetes Medicine** v.30, p. 35–42, 2013.

BIENERTOVA-VASKU, J., BIENERT, P., FOREJT, M., TOMANDL, J., BRAZDOVA, Z.; VASKU, A. Genotype x nutrient association of common polymorphisms in obesity-related genes with food preferences and time structure of energy intake. **The British Journal of Nutrition**. v. 103, n. 3, p. 352-359, 2010.

BIENERTO VÁ-VAŠKŮ, J., ŠPINAROVÁ, L., BIENERT, P.; VAŠKŮ, A. Association between variants in the genes for leptin, leptin receptor, and proopiomelanocortin with chronic heart failure in the Czech population. **Heart and Vessels**. v. 24, n. 2, p. 131-137, 2009.

BIINO, G., PARATI, G., CONCAS, M. P., ADAMO, M., ANGIUS, A., VACCARGIU, S., *et al.* Environmental and Genetic Contribution to Hypertension Prevalence: Data from an Epidemiological Survey on Sardinian Genetic Isolates. **PLoS One**. v. 8, n. 3, p. e59612, 2013.

BLACKETT, P. R.; SANGHERA, D. K. Genetic determinants of cardiometabolic risk: A proposed model for phenotype association and interaction. **Journal of Clinical Lipidology**. v. 7, n. 1, p. 65-81, 2013.

BO, S., MUSSO, G., GAMBINO, R., VILLOIS, P., GENTILE, L., DURAZZO, M., CAVALLO-PERIN, P., CASSADER, M. Prognostic implications for insulin-sensitive and insulin-resistant normal-weight and obese individuals from a population-based cohort. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.96, p. 962-969, 2012.

BOCHUD, M., ELSTON, R. C., MAILLARD, M., BOVET, P., SCHILD, L., SHAMLAYE, C., *et al.* Heritability of renal function in hypertensive families of African descent in the Seychelles (Indian Ocean). **Kidney International**. v. 67, n. 1, p. 61-69, 2005.

BODZIOCH, M., E, O., KLUCKEN, J., LANGMANN, T., BOTTCHE, A., DIEDERICH, W., *et al.* The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. **Nature Genetics**. v. 22, n. p. 347-351, 1999.

BORECKI, I. B.; PROVINCE, M. A. Genetic and Genomic Discovery Using Family Studies. **Circulation**. v. 118, n. 10, p. 1057-1063, 2008.

BOSY-WESTPHAL, A., ONUR, S., GEISLER, C., WOLF, A., KORTH, O., PFEUFFER, M., *et al.* Common familial influences on clustering of metabolic syndrome traits with central obesity and insulin resistance: the Kiel obesity prevention study. **International Journal Obesity**. v. 31, n. 5, p. 784-790, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Conselho Nacional de Saúde**. Resolução n. 196 de 10 de outubro de 1996. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Informe epidemiológico do Sistema Único de Saúde. Disponível em <<http://conselho.saude.gov.br>>. Disponível em: Acesso em: 31 de outubro de 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. **VIGITEL Brasil 2012**. Brasília: Ministério da Saúde. 135p. 2012 .

BRUCE THOMPSON, D., RAVUSSIN, E., BENNETT, P. H.; BOGARDUS, C. Structure and Sequence Variation at the Human Leptin Receptor Gene in Lean and Obese Pima Indians. **Human molecular genetics**. v. 6, n. 5, p. 675-679, 1997.

CAMERON, A. J.; MAGLIANO, D.J; SODERBERG, S. A systematic review of the impact of including both waist and hip circumference in risk models for cardiovascular diseases, diabetes and mortality. **Obesity Reviews**. v.14, n.1, p 86-94, 2013.

CAMPOS, M. O.; NETO, J. F. R. Doenças crônicas não transmissíveis: Fatores de risco e repercussão na qualidade de vida. **Revista Baiana de Saúde Pública**. v. 33, n. 4, p. 561-581, 2009.

CARMENKE, S., FREITAG, M. H., PISCHON, T., SCHLATTMANN, P., FANKHAENEL, T., GOEBEL, H., *et al.* General and abdominal obesity parameters and their combination in relation to mortality: a systematic review and meta-regression analysis. **European Journal of Clinical Nutrition**. v. 67, n. 6, p. 573-585, 2013.

CHAGNON, Y. C., CHUNG, W. K., PÉRUSSE, L., CHAGNON, M., LEIBEL, R. L.; BOUCHARD, C. Linkages and associations between the leptin receptor (LEPR) gene and human body composition in the Quebec Family Study. **International journal of obesity and related metabolic disorders**. v. 23, n. 3, p. 278-286, 1999.

CHAGNON, Y. C., WILMORE, J. H., BORECKI, I. B., GAGNON, J., PÉRUSSE, L., CHAGNON, M., *et al.* Associations between the Leptin Receptor Gene and Adiposity in Middle-Aged Caucasian Males from the HERITAGE Family Study. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 85, n. 1, p. 29-34, 2000.

CHIEN, K. L., HSU, H. C., SU, T. C., YANG, C. Y.; LEE, Y. T. Consistency of genetic inheritance mode and heritability patterns of triglyceride vs. high density lipoprotein cholesterol ratio in two Taiwanese family samples. **BMC Genetics**. v. 4, n. p. 7, 2003.

CHOBANIAN, A. V., BAKRIS, G. L., BLACK, H. R., CUSHMAN, W. C., GREEN, L. A., IZZO, J. L., JR., *et al.* The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. **JAMA**. v. 289, n. 19, p. 2560-2572, 2003.

COUTINHO, L. M. S., SCAZUFCA, M.; MENEZES, P. R. Métodos para estimar razão de prevalência em estudos de corte transversal. **Revista de Saúde Pública.** v. 42, n. p. 992-998, 2008.

COCHRAN, W.G, **Sampling Techniques**, 3,ed, John Wiley & Sons, New York, 1977

CRAIG C. L.; MARSHALL A. L.; SJOSTROM M.; BAUMAN A. E.; BOOTH M.; AINSWORTH B. E.; et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Medicine & Science in Sports & Exercise.** V. 35, p. 1381-1395, 2003.

DAVIGNON, J.; GENEST, J. GENETICS OF LIPOPROTEIN DISORDERS. **Endocrinology and metabolism clinics of North America.** v. 27, n. 3, p. 521-550, 1998.

DIVERS, J., SALE, M. M., LU, L., CHEN, W. M., LOK, K. H., SPRUILL, I. J., *et al.* The genetic architecture of lipoprotein subclasses in Gullah-speaking African American families enriched for type 2 diabetes: the Sea Islands Genetic African American Registry (Project SuGAR). **Journal of Lipid Research.** v. 51, n. 3, p. 586-597, 2010.

DORIS, P. A. Hypertension Genetics, Single Nucleotide Polymorphisms, and the Common Disease:Common Variant Hypothesis. **Hypertension.** v. 39, n. 2, p. 323-331, 2002.

DUARTE, S. F., FRANCISCHETTI, E. A., GENELHU, V. A., CABELLO, P. H.; PIMENTEL, M. M. LEPR p.Q223R, beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. **Geneticals and Molecular Research:GMR.** v. 6, n. 4, p. 1035-1043, 2007.

DUMITH, S. C. Physical activity in Brazil: a systematic review. **Cadernos de Saúde Pública.** v. 25, n. p. S415-S426, 2009.

DUTRA, M. S., BÉLA, S. R., PEIXOTO-RANGEL, A. L., FAKIOLA, M., CRUZ, A. G., GAZZINELLI, A., *et al.* Association of a NOD2 gene polymorphism and responsiveness of Th17 lymphocytes with ocular toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases.** v.207 n.1 p.152-163 2012.

DYKE, B. PEDSYS: A Pedigre Data Management System. Version 2.0. San Antonio. For Sun Microsystems Unix, MS-Windows and Macintosh,1992.

EDWARDS, K. L., MAHANEY, M. C., MOTULSKY, A. G.; AUSTIN, M. A. Pleiotropic Genetic Effects on LDL Size, Plasma Triglyceride, and HDL Cholesterol in Families. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biololgy.** v. 19, n. 10, p. 2456-2464, 1999.

ELKS, C. E., DEN HOED, M., ZHAO, J. H., SHARP, S. J., WAREHAM, N. J., LOOS, R. J., *et al.* Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. **Front Endocrinology (Lausanne)**. v. 3, n. p. 29, 2012.

FAVA, C., BURRI, P., ALMGREN, P., GROOP, L., HULTHEN, U. L.; MELANDER, O. Heritability of ambulatory and office blood pressure phenotypes in Swedish families. **Journal of Hypertension**. v. 22, n. 9, p. 1717-1721, 2004.

FEITOSA, M. F., RICE, T., RANKINEN, T., ALMASY, L., LEON, A. S., SKINNER, J. S., *et al.* Common Genetic and Environmental Effects on Lipid Phenotypes: The HERITAGE Family Study. **Human Heredity**. v. 59, n. 1, p. 34-40, 2005.

FELISBINO-MENDES, M. (2013). **Antropometria em mulheres e desfechos reprodutivos**. Tese de Doutorado (Grau de Doutor em Saúde e Enfermagem). Enfermagem Materno-Infantil. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais: 119.

FLEGAL, K. M., SHEPHERD, J. A., LOOKER, A. C., GRAUBARD, B. I., BORRUD, L. G., OGDEN, C. L., *et al.* Comparisons of percentage body fat, body mass index, waist circumference, and waist-stature ratio in adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 89, n. 2, p. 500-508, 2009.

FREEMAN, M., MANSFIELD, M., BARRETT, J.; GRANT, P. Heritability of features of the insulin resistance syndrome in a community-based study of healthy families. **Diabetes Medicine**. v. 19, n. p. 994 - 999, 2002.

FURUSAWA, T., NAKA, I., YAMAUCHI, T., NATSUHARA, K., KIMURA, R., NAKAZAWA, M., *et al.* The Q223R polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders. **Human Genetics**. v. 127, n. 3, p. 287-294, 2010.

GARVEY, W. T., KWON, S., ZHENG, D., SHAUGHNESSY, S., WALLACE, P., HUTTO, A., *et al.* Effects of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes on Lipoprotein Subclass Particle Size and Concentration Determined by Nuclear Magnetic Resonance. **Diabetes**. v. 52, n. 2, p. 453-462, 2003.

GAZZINELLI, A., HIGHTOWER, A., LOVERDE, P. T., HADDAD, J. P. A., PEREIRA, W. R., BETHONY, J., *et al.* The spatial distribution of *Schistosoma mansoni* infection before and after chemotherapy in the Jequitinhonha Valley in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 101, n. p. 63-71, 2006.

GAZZINELLI, M. F. C., KLOOS, H., DE CÁSSIA MARQUES, R., DOS REIS, D. C.; GAZZINELLI, A. Popular beliefs about the infectivity of water among school children in two hyperendemic schistosomiasis areas of Brazil. **Acta Tropica**. v. 108, n. 2-3, p. 202-208, 2008.

GENEST, J. Lipoprotein disorders and cardiovascular risk. **Journal of Inherited Metabolic Disease.** v. 26, n. 2, p. 267-287, 2003.

GIGANTE, D. P., FRANÇA, G. V. A. D., SARDINHA, L. M. V., ISER, B. P. M.; MELÉNDEZ, G. V. Variação temporal na prevalência do excesso de peso e obesidade em adultos: Brasil, 2006 a 2009. **Revista Brasileira de Epidemiologia.** v. 14, n. p. 157-165, 2011.

GRANT, A. V., ARAUJO, M. I., PONTE, E. V., OLIVEIRA, R. R., CRUZ, A. A., BARNES, K. C., *et al.* High Heritability but Uncertain Mode of Inheritance for Total Serum IgE Level and *Schistosoma mansoni* Infection Intensity in a Schistosomiasis-Endemic Brazilian Population. **Journal of Infectious Diseases.** v. 198, n. 8, p. 1227-1236, 2008.

GREENBERG AS, OBIN MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition** 83: 461S-465S, 2006.

HARDY, J.; SINGLETON, A. Genomewide Association Studies and Human Disease. **New England Journal of Medicine.** v. 360, n. 17, p. 1759-1768, 2009.

HASSELBALCH, A. L., HEITMANN, B. L., KYVIK, K. O.; SORENSEN, T. I. Associations between dietary intake and body fat independent of genetic and familial environmental background. *International Journal of Obesity (Lond).* v. 34, n. 5, p. 892-898, 2010.

HE, YN, FESKENS EJ, LI YP, ZHANG J, FU P, MA GS, YANG XG. Association between High Fat-low Carbohydrate Diet Score and Newly Diagnosed Type 2 Diabetes in Chinese Population. **Biomedical and Environmental Sciences,** v.25, p.373-382, 2012.

HEBE BRAND, J., HINNEY, A., KNOLL, N., VOLCKMAR, A. L.; SCHERAG, A. Molecular genetic aspects of weight regulation. **Deutsches Arzteblatt International.** v. 110, n. 19, p. 338-344, 2013.

HEITMANN, B. L., KAPRIO, J., HARRIS, J. R., RISSANEN, A., KORKEILA, M.; KOSKENVUO, M. Are genetic determinants of weight gain modified by leisure-time physical activity? A prospective study of Finnish twins. **The American Journal of Clinical Nutrition.** v. 66, n. 3, p. 672-678, 1997.

HEO, M., LEIBEL, R. L., BOYER, B. B., CHUNG, W. K., KOULU, M., KARVONEN, M. K., *et al.* Pooling Analysis of Genetic Data: The Association of Leptin Receptor (LEPR) Polymorphisms With Variables Related to Human Adiposity. **Genetics.** v. 159, n. 3, p. 1163-1178, 2001.

HEALTH AND HUMAN SERVICE/HHS – U. S. Department of health and human services. Physical Activity Guidelines Advisory Committee. Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report, 2008. Washington, DC: United States., 2008.

HILEMAN, S. M., PIERROZ, D. D., MASUZAKI, H., BJØRBÆK, C., EL-HASCHIMI, K., BANKS, W. A., *et al.* Characterization of Short Isoforms of the Leptin Receptor in Rat Cerebral Microvessels and of Brain Uptake of Leptin in Mouse Models of Obesity. **Endocrinology**. v. 143, n. 3, p. 775-783, 2002.

HINNEY, A., VOGEL, C. G.; HEBEBRAND, J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. **European Child & Adolescent Psychiatry**. v. 19, n. 3, p. 297-310, 2010.

HEUTINK P, OOSTRA BA.. Gene finding in genetically isolated populations. **Human molecular genetics**, v.11, p. 2507-2515, 2002.

HOKANSON, J. E., LANGEFELD, C. D., MITCHELL, B. D., LANGE, L. A., GOFF JR, D. C., HAFFNER, S. M., *et al.* Pleiotropy and Heterogeneity in the Expression of Atherogenic Lipoproteins: The IRAS Family Study. **Human Heredity**. v. 55, n. 1, p. 46-50, 2003.

HOSMER, D. W., LEMESHOW, S. J.; SUSANNE, M. **Applied Survival Analysis: Regression Modeling of Time to Event Data**. John Wiley & Sons. 416p. 2000.

HSU, F. C., ZACCARO, D. J., LANGE, L. A., ARNETT, D. K., LANGEFELD, C. D., WAGENKNECHT, L. E., *et al.* The Impact of Pedigree Structure on Heritability Estimates for Pulse Pressure in Three Studies. **Human Heredity**. v. 60, n. 2, p. 63-72, 2005.

HUNTER, D. J.; REDDY, K. S. Noncommunicable diseases. **New England of Journal Medicine**. v. 369, n. 14, p. 1336-1343, 2013.

HUUSKONEN, A., LAPPALAINEN, J., TANSKANEN, M., OKSALA, N., KYRÖLÄINEN, H.; ATALAY, M. Genetic variations of leptin and leptin receptor are associated with body composition changes in response to physical training. **Cell Biochemistry and Function**. v. 28, n. 4, p. 306-312, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA/IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009** - Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes, Adultos e Idosos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010a. Disponível: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/POFpublicacao.pdf>, Acesso em: 24 de dezembro de 2013, 130p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA/IBGE. **Censo 2010**. Disponível em: <<http://censo2010.ibge.gov.br/>>. Rio de Janeiro: IBGE, 2010b. Acesso em: 2 de maio de 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA/IBGE. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - PNAD 2008**. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa Especial de Tabagismo. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/graficos_dinamicos/petab2008/default.htm>. Brasília: IBGE, 2008. Acesso em: 16 de fevereiro de 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA/IBGE. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - PNAD 2012**. Disponível em: < http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/59/pnad_2012_v32_br.pdf>. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. Acesso em: 16 de fevereiro de 2014.

IONITA-LAZA, I.; OTTMAN, R. Study designs for identification of rare disease variants in complex diseases: the utility of family-based designs. **Genetics**. v. 189, n. 3, p. 1061-1068, 2011.

JACKSON, K. G., DELGADO-LISTA, J., GILL, R., LOVEGROVE, J. A., WILLIAMS, C. M., LÓPEZ-MIRANDA, J., *et al.* The leptin receptor Gln223Arg polymorphism (rs1137101) mediates the postprandial lipaemic response, but only in males. **Atherosclerosis**. v. 225, n. 1, p. 135-141, 2012.

JOURDAN, C.; PETERSEN, A-K; GIEGER C, DORING A, ILLIG T, *et al.* (2012) Body Fat Free Mass Is Associated with the Serum Metabolite Profile in a Population-Based Study. **PLoS ONE** v.7, n. 6, p.e40009.

JOHN, D. B.; AMIR, F. A. Dyslipidemia in the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. **The American journal of medicine**. v. 115, n. 8, p. 24-28, 2003.

KALTON, G. F.C. I. Weighting Methods. **Journal of Official Statistics**, v. 19, n.2., p. 81-97, 2003.

KAHN, H. S.; VALDEZ, R. Metabolic risks identified by the combination of enlarged waist and elevated triacylglycerol concentration. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 78, n. 5, p. 928-934, 2003.

KARNEHED, N., TYNELIUS, P., HEITMAN, B. L.; RASMUSSEN, F. Physical activity, diet and gene–environment interactions in relation to body mass index and waist circumference: The Swedish Young Male Twins Study. **Public Health Nutrition**. v. 9, n. 07, p. 851-858, 2006.

KISH L. **Survey Sampling**. New York: John Wiley & Sons; 34p. 1965.

KRAUSS, R. M. Lipids and Lipoproteins in Patients With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**. v. 27, n. 6, p. 1496-1504, 2004.

KALTON, G, **Compensating for Missing Survey Data**, Institute for Social Research, The University of Michigan, An Arbor, Michigan, 1983.

KULLO, I. J., DE ANDRADE, M., BOERWINKLE, E., MCCONNELL, J. P., KARDIA, S. L.; TURNER, S. T. Pleiotropic genetic effects contribute to the correlation between HDL cholesterol, triglycerides, and LDL particle size in hypertensive sibships. **American Journal of Hypertension**. v. 18, n. 1, p. 99-103, 2005.

LABAYEN, I., RUIZ, J. R., MORENO, L. A., ORTEGA, F. B., BEGHIN, L., DEHENAUX, S., *et al.* The Effect of Ponderal Index at Birth on the Relationships Between Common LEP and LEPR Polymorphisms and Adiposity in Adolescents. **Obesity (Silver Spring)**. v. 19, n. 10, p. 2038-2045, 2011.

LAKKA, T. A., RANKINEN, T., WEISNAGEL, S. J., CHAGNON, Y. C., LAKKA, H.-M., UKKOLA, O., *et al.* Leptin and Leptin Receptor Gene Polymorphisms and Changes in Glucose Homeostasis in Response to Regular Exercise in Nondiabetic Individuals. **Diabetes**. v. 53, n. 6, p. 1603-1608, 2004.

LANDER, E.; KRUGLYAK, L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. **Nature Genetics**. v. 11, n. 3, p. 241 - 247, 1995.

LANDER, E.; SCHORK, N. Genetic dissection of complex traits. **Science**. v. 265, n. 5181, p. 2037-2048, 1994.

LARANJEIRA, R. PINSKY, I., ZALESKI, M., CAETANO, R. I Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira. Brasília: SENAD. 2007. Disponível em: < http://www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/biblioteca/documentos/Dados_Estatisticos/populacao_brasileira/Padroes_consumo_alcool_populacao_brasileira/327716.pdf>, Acesso em: 16 de fevereiro de 2014, 40p.

LAWS, A., STEFANICK, M. L.; REAVEN, G. M. Insulin Resistance and Hypertriglyceridemia in Nondiabetic Relatives of Patients with Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 69, n. 2, p. 343-347, 1989.

LEE, J., CHEN, L., SNIEDER, H., CHEN DA, F., LEE, L. M., LIU, G. F., *et al.* Heritability of obesity-related phenotypes and association with adiponectin gene polymorphisms in the Chinese national twin registry. **Annals of Human Genetics**. v. 74, n. 2, p. 146-154, 2010.

LIM, S. S., VOS, T., FLAXMAN, A. D., DANAEI, G., SHIBUYA, K., ADAIR-ROHANI, H., *et al.* A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990?2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**. v. 380, n. 9859, p. 2224-2260, 2012.

LIN, H. F., BODEN-ALBALA, B., JUO, S. H., PARK, N., RUNDEK, T.; SACCO, R. L. Heritabilities of the metabolic syndrome and its components in the Northern Manhattan Family Study. **Diabetologia**. v. 48, n. 10, p. 2006-2012, 2005.

LIU, I. M. Breslow–Day Test. In: **Encyclopedia of Biostatistics**. John Wiley & Sons, Ltd.2005. v.1 p. 560–560. DOI: 10.1002/0470011815.b2a10009

LOHMAN, T., ROCHE, A.; MARTORELL, R. **Anthropometric Standardization Reference Manual**. Champaign, Illinois, Human Kinetics.177p. 1988.

LOOS, R. J. F.; BOUCHARD, C. Obesity – is it a genetic disorder? **Journal of Internal Medicine**. v. 254, n. 5, p. 401-425, 2003.

MAHANEY, M. C., BLANGERO, J., COMUZZIE, A. G., VANDEBERG, J. L., STERN, M. P.; MACCLUER, J. W. Plasma HDL Cholesterol, Triglycerides, and Adiposity: A Quantitative Genetic Test of the Conjoint Trait Hypothesis in the San Antonio Family Heart Study. **Circulation**. v. 92, n. 11, p. 3240-3248, 1995.

MALHOTRA, A.; WOLFORD, J. K. Analysis of Quantitative Lipid Traits in the Genetics of NIDDM (GENNID) Study. **Diabetes**. v. 54, n. 10, p. 3007-3014, 2005.

MANOLIO, T. A., COLLINS, F. S., COX, N. J., GOLDSTEIN, D. B., HINDORFF, L. A., HUNTER, D. J., *et al.* Finding the missing heritability of complex diseases. **Nature**. v. 461, n. 7265, p. 747-753, 2009.

MANTZOROS, C. S., MAGKOS, F., BRINKOETTER, M., SIENKIEWICZ, E., DARDENO, T. A., KIM, S.-Y., *et al.* Leptin in human physiology and pathophysiology. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**. v. 301, n. 4, p. E567-E584, 2011.

MAYER EJ, NEWMAN B, AUSTIN MA, ZHANG D, QUESENBERRY CP, EDWARDS K, SELBY JV. Genetic and Environmental Influences on Insulin Levels and the Insulin Resistance Syndrome: an Analysis of Women Twins. **American Journal of Epidemiology**, v. 143, p.323-332, 1996.

MARCOPITO, L. F., RODRIGUES, S. S. F., PACHECO, M. A., SHIRASSUB, M. M., GOLDFEDERD, A. J.; MORAES, M. A. D. Prevalência de alguns fatores de risco para doenças crônicas na cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**. v. 39, n. p. 738-745, 2005.

MARGETIC, S., GAZZOLA, C., PEGG, G. G.; HILL, R. A. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. **International Journal of Obesity**. v. 26, n. 11, p. 2002.

MASUO, K., STRAZNICKY, N. E., LAMBERT, G. W., KATSUYA, T., SUGIMOTO, K., RAKUGI, H., *et al.* Leptin-Receptor Polymorphisms Relate to Obesity through Blunted Leptin-Mediated Sympathetic Nerve Activation in a Caucasian Male Population. **Hypertension Research**. v. 31, n. 6, p. 1093-1100, 2008.

MATSUDO, S., ARAUJO, T., V. M., ANDRADE, D., ANDRADE, E., OLIVEIRA, L. C., *et al.* Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**. v. 6, n. 2, p. 5-18, 2001.

MATSUOKA, N., OGAWA, Y., HOSODA, K., MATSUDA, J., MASUZAKI, H., MIYAWAKI, T., *et al.* Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. **Diabetologia**. v. 40, n. 10, p. 1204-1210, 1997.

MATTEVI, V. S., ZEMBRZUSKI, V. M.; HUTZ, M. H. Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**. v. 26, n. 9, p. 1179-1185, 2002.

MATSUDO, S.M.; MATSUDO, V. R; ARAUJO, T.; ANDRADE, D.;OLIVEIRA, L. *et al.* Nível de atividade física da população do Estado de São Paulo:análise de acordo com o gênero, idade, nível socioeconômico,distribuição geográfica e de conhecimento. **Revista Brasileira. Ciências. e Movimento**. Brasília v. 10 n. 4 p. 41-50

MAYER, E. J., NEWMAN, B., AUSTIN, M. A., ZHANG, D., QUESENBERRY, C. P., EDWARDS, K., *et al.* Genetic and Environmental Influences on Insulin Levels and the Insulin Resistance Syndrome: an Analysis of Women Twins. **American Journal of Epidemiology**. v. 143, n. 4, p. 323-332, 1996.

MCCARTHY, M. I., ABECASIS, G. R., CARDON, L. R., GOLDSTEIN, D. B., LITTLE, J., IOANNIDIS, J. P. A., *et al.* Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. **Nature Review Genetics**. v. 9, n. 5, p. 356-369, 2008.

McQUEEN, M., BERTRAM, L., RIMM, E., BLACKER, D.; SANTANGELO, S. A QTL genome scan of the metabolic syndrome and its component traits. **BMC Genetics**. v. 4 Suppl 1, n. p. S96, 2003.

MENDES, L. L., GAZZINELLI, A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Fatores associados à resistência à insulina em populações rurais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 53, n. p. 332-339, 2009.

MERGEN, H., X, CE, KARAASLAN, CCEDIL, X011F, *et al.* LEPR, ADBR3, IRS-1 and 5-HTT Genes Polymorphisms do not Associate with Obesity. **Endocrine Journal**. v. 54, n. 1, p. 89-94, 2007.

MINIHANE, A. M. The genetic contribution to disease risk and variability in response to diet: where is the hidden heritability? **Proceedings of the Nutrition Society**. v. 72, n. 01, p. 40-47, 2013.

MIRANDA CHAGAS, S. V., KANAAN, S., CHUNG KANG, H., CAGY, M., DE ABREU, R. E., DA SILVA, L. A., *et al.* Environmental factors, familial aggregation and heritability of total cholesterol, low density lipoprotein-cholesterol and high density lipoprotein-cholesterol in a Brazilian population assisted by the Family Doctor Program. **Public Health**. v. 125, n. 6, p. 329-337, 2011.

MISRA, A., PANDEY, R. M., DEVI, J. R., SHARMA, R., VIKRAM, N. K.; KHANNA, N. High prevalence of diabetes, obesity and dyslipidaemia in urban slum population in northern India. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**. v. 25, n. 11, p. 1722-1729, 2001.

MITCHELL, B. D., KAMMERER, C. M., BLANGERO, J., MAHANEY, M. C., RAINWATER, D. L., DYKE, B., *et al.* Genetic and environmental contributions to cardiovascular risk factors in Mexican Americans. The San Antonio Family Heart Study. **Circulation**. v. 94, n. 9, p. 2159-2170, 1996.

MURUGESAN, D., SUBRAMANIAN, S., ARUNACHALAM, T.; RAMAMURTHY, V. Association of polymorphisms in leptin receptor gene with obesity and type 2 diabetes in the local population of Coimbatore. **Indian Journal of Human Genetics**. v. 16, n. 2, p. 72-77, 2010.

NACHMAN, M. W. Single nucleotide polymorphisms and recombination rate in humans. **Trends in genetics : TIG**. v. 17, n. 9, p. 481-485, 2001.

NOLAN, D., KRAUS, W. E., HAUSER, E., LI, Y. J., THOMPSON, D. K., JOHNSON, J., *et al.* Genome-wide linkage analysis of cardiovascular disease biomarkers in a large, multigenerational family. **PLoS One**. v. 8, n. 8, p. e71779, 2013.

NORTH, K., HOWARD, B., WELTY, T., BEST, L., LEE, E., YEH, J., *et al.* Genetic and environmental contributions to cardiovascular disease risk in American Indians: the strong heart family study. **American Journal Epidemiology**. v. 157, n. p. 303 - 314, 2003.

ODEGAARD, A. O., KOH, W. P., YUAN, J.-M., GROSS, M. D.; PEREIRA, M. A. Western-Style Fast Food Intake and Cardiometabolic Risk in an Eastern Country / Clinical Perspective. **Circulation**. v. 126, n. 2, p. 182-188, 2012.

OLIVEIRA, C. D., PEREIRA, A., DE ANDRADE, M., SOLER, J.; KRIEGER, J. Heritability of cardiovascular risk factors in a Brazilian population: Baependi Heart Study. **BMC Medical Genetics**. v. 9, n. 1, p. 32, 2008.

OTT, J., KAMATANI, Y.; LATHROP, M. Family-based designs for genome-wide association studies. **Nature Reviews Genetics**. v. 12, n. 7, p. 465-474, 2011.

PARRA FC, AMADO RC, LAMBERTUCCI JR, ROCHA J, ANTUNES CM, PENA SDJ. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, p. 177-182, 2003.

PAUSOVA, Z., GOSSARD, F., GAUDET, D., TREMBLAY, J., KOTCHEN, T. A., COWLEY, A. W., *et al.* Heritability Estimates of Obesity Measures in Siblings With and Without Hypertension. **Hypertension**. v. 38, n. 1, p. 41-47, 2001.

PENA, S. D. J., DI PIETRO, G., FUCHSHUBER-MORAES, M., GENRO, J. P., HUTZ, M. H., KEHDY, F. D. S. G., *et al.* The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected. **PLoS ONE**. v. 6, n. 2, p. e17063, 2011.

PEREIRA, T. V., MINGRONI-NETTO, R. C.; YAMADA, Y. ADRB2 and LEPR Gene Polymorphisms: Synergistic Effects on the Risk of Obesity in Japanese. **Obesity (Silver Spring)**. v. 19, n. 7, p. 1523-1527, 2011.

PEREIRA, T. V., PATSOPOULOS, N. A., SALANTI, G.; IOANNIDIS, J. P. A. Discovery Properties of Genome-wide Association Signals From Cumulatively Combined Data Sets. **American journal of epidemiology**. v. 170, n. 10, p. 1197-1206, 2009.

PERUSSE, L., DESPRES, J., TREMBLAY, A., LEBLANC, C., TALBOT, J., ALLARD, C., *et al.* Genetic and environmental determinants of serum lipids and lipoproteins in French Canadian families. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. v. 9, n. 3, p. 308-318, 1989.

PILIA, G., CHEN, W., SCUTERI, A., ORRU, M., ALBAI, G., DEI, M., *et al.* Heritability of cardiovascular and personality traits in 6,148 Sardinians. **PLoS genetics**. v. 2, n. 8, p. e132, 2006.

PIMENTA JR, ZUCCHERATO LW, DEBES AA, MASELLI L, SOARES RP, MOURA-NETO RS, ROCHA J, BYDLOWSKI SP, PENA SDJ.. Color and Genomic Ancestry in Brazilians: A Study with Forensic Microsatellites. **Human Heredity**, v. 62, p. 190-195, 2006.

PIMENTA, A. M., GAZZINELLI, A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Prevalência da síndrome metabólica e seus fatores associados em área rural de Minas Gerais (MG, Brasil). **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 16, p. 3297-3306, 2011.

PIMENTA, A. M., KAC, G., GAZZINELLI, A., CORRÊA-OLIVEIRA, R.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Associação entre Obesidade Central, Triglicérides e Hipertensão Arterial em uma Área Rural do Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 90, n. 6, p. 419-425, 2008.

PINHO, C. P. S., ARRUDA, A. S., GRANDE, I. K., BATISTA FILHO, M. COELHO, P.C., SEQUEIRA, L. A., LIRA, P.I.C. Prevalence of abdominal obesity and associated factors among individuals 25 to 59 years of age in Pernambuco State, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, Fevereiro. 2013

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO/ PNUD. Desenvolvimento Humano e IDH. Pages. Disponível em: <<http://www.pnud.org.br/atlas/ranking/Ranking-IDHM-Municipios-2010.aspx>>. Acesso em: 17 de janeiro de 2014.

POPKO, K., GORSKA, E., WASIK, M., STOKLOSA, A., PLYWACZEWSKI, R., WINIARSKA, M., *et al.* Frequency of distribution of leptin receptor gene polymorphism in obstructive sleep apnea patients. **Journal of Physiology Pharmacology**. v. 58 Suppl 5, n. Pt 2, p. 551-561, 2007.

QUINNELL, R. J., PULLAN, R. L., BREITLING, L. P., GEIGER, S. M., CUNDILL, B., CORREA-OLIVEIRA, R., *et al.* Genetic and Household Determinants of Predisposition to Human Hookworm Infection in a Brazilian Community. **Journal of Infectious Diseases**. v. 202, n. 6, p. 954-961, 2010.

QUINTON, N., LEE, A., ROSS, R., EASTELL, R.; BLAKEMORE, A. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. **Human Genetics**. v. 108, n. 3, p. 233-236, 2001.

RAGIN, C., DALLAL, C., OKOBIA, M., MODUGNO, F., CHEN, J., GARTE, S., *et al.* Leptin levels and leptin receptor polymorphism frequency in healthy populations. **Infectious Agents and Cancer**. v. 4, n. Suppl 1, p. S13, 2009.

RAO F, CHIRON, S., WEI, Z., FUNG, M. M., CHEN, Y., WEN, G., KHANDRIKA, S., ZIEGLER, M. G., BENYAMIN, B., MONTGOMERY, G., WHITFIELD, J. B., MARTIN, N. G., WAALLEN, J., HAMILTON, B. A., MAHATA, S. K., O'CONNOR, D. T. Genetic Variation Within a Metabolic Motif in the Chromogranin A Promoter: Pleiotropic Influence on Cardiometabolic Risk Traits in Twins. **American Journal Hypertension**, v.25, p.29-40, 2012.

REIS, D. C. D., KLOOS, H., KING, C., QUITES, H. F. O., MATOSO, L. F., COELHO, K. R., *et al.* Accessibility to and utilisation of schistosomiasis-related health services in a rural area of state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 105, n. p. 587-597, 2010.

RICE T, PÉRUSSE L, BOUCHARD C, RAO DC. Familial aggregation of body mass index and subcutaneous fat measures in the longitudinal Québec family study. **Genetic Epidemiology**, v.16, p.316-334, 1999.

RIESTRA, P., GARCÍA-ANGUITA, A., SCHOPPEN, S., LÓPEZ-SIMÓN, L., DE OYA, M.; GARCÉS, C. Sex-specific association between leptin receptor polymorphisms and leptin levels and BMI in healthy adolescents*. **Acta Pædiatrica**. v. 99, n. 10, p. 1527-1530, 2010.

RISCH, N.; TENG, J. The relative power of family-based and case-control designs for linkage disequilibrium studies of complex human diseases I. DNA pooling. **Genome Research**. v. 8, n. 12, p. 1273-1288, 1998.

ROKHOLM, B., SILVENTOINEN, K., TYNELIUS, P., GAMBORG, M., SØRENSEN, T. I. A.; RASMUSSEN, F. Increasing Genetic Variance of Body Mass Index during the Swedish Obesity Epidemic. **PLoS ONE**. v. 6, n. 11, p. e27135, 2011.

ROSMOND, R., CHAGNON, Y. C., HOLM, G., CHAGNON, M., PÉRUSSE, L., LINDELL, K., *et al.* Hypertension in Obesity and the Leptin Receptor Gene Locus. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 85, n. 9, p. 3126-3131, 2000.

RUST, S., ROSIER, M., FUNKE, H., REAL, J., AMOURA, Z., PIETTE, J.-C., *et al.* Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter **Nature Genetics**. v. 22, n. p. 352-355, 1999.

SADER, S., NIAN, M.; LIU, P. Leptin: A Novel Link Between Obesity, Diabetes, Cardiovascular Risk, and Ventricular Hypertrophy. **Circulation**. v. 108, n. 6, p. 644-646, 2003.

SALOPURO, T., PULKKINEN, L., LINDSTROM, J., ERIKSSON, J. G., VALLE, T. T., HAMALAINEN, H., *et al.* Genetic variation in leptin receptor gene is associated with type 2 diabetes and body weight: The Finnish Diabetes Prevention Study. **International Journal of Obesity (London)**. v. 29, n. 10, p. 1245-1251, 2005.

SANTOS, V. (2007). **Associação do polimorfismo Gln223Arg do receptor da leptina com índice de massa corporal e status tabágico**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina. Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. **Mestrado**: 105.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA / SBC. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 95, n.1,p. 1-51, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES/ SBD. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2006**. Tratamento e acompanhamento do Diabetes *Mellitus*. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. Rio de Janeiro. 154p. Disponível em: < <http://www.diabetes.org.br/publicacoes>>. Acesso em 13 de dezembro de 2013.

SOUREN N, PAULUSSEN A, LOOS R, GIELEN M, BEUNEN G, FAGARD R, DEROM C, VLIETINCK R, ZEEGERS M.. Anthropometry, carbohydrate and lipid metabolism in the East Flanders Prospective Twin Survey: heritabilities. **Diabetologia** v. 50, p.2107-2116, 2007.

SCHUMACHER, M. C., MAXWELL, T. M., WU, L. L., HUNT, S. C., WILLIAMS, R. R.; ELBEIN, S. C. Dyslipidemias among normoglycemic members of familial NIDDM pedigrees. **Diabetes Care**. v. 15, n. 10, p. 1285-1289, 1992.

SHAH, S. H. Gene polymorphisms and susceptibility to coronary artery disease. **Pediatric Blood & Cancer**. v. 48, n. 7, p. 738-741, 2007.

SHIFMAN, S.; DARVASI, A. The value of isolated populations. **Nature Genetics**. v. 28, n. 4, p. 309 - 310, 2001.

SCHMIDT MI, WATSON RL, DUNCAN BB, METCALF P, BRANCATI FL, RICHEY SHARRETT A, DAVIS CE, HEISS G. Clustering of dyslipidemia, hyperuricemia, diabetes, and hypertension and its association with fasting insulin and central and overall obesity in a general population. **Metabolism**, v.45, p. 699-706, 1996.

SHIELDS, M., TREMBLAY, M.S, GORBER, S. C., JANSSEN, I. Abdominal obesity and cardiovascular disease risk factors within body mass index categories. **Health Reports**, v.. 23, n.2, 2012

SILVA, A. **Influência do receptor de leptina e impacto da dieta e treinamento físico sobre variáveis antropométricas, metabólicas e neurovasculares em mulheres obesas**. Faculdade de Medicina. Programa de Endocrinologia. São Paulo, Universidade de São Paulo. Tese de Doutorado: 136p. 2010.

SILVA, D. A. S., PETROSKI, E. L. e PERES, M. A. Is high body fat estimated by body mass index and waist circumference a predictor of hypertension in adults? A population-based study. **Nutrition Journal**. v. 11, n. 1, p. 112, 2012.

SIVAKUMARAN, S., AGAKOV, F., THEODORATOU, E., PRENDERGAST, JAMES G., ZGAGA, L., MANOLIO, T., *et al*. Abundant Pleiotropy in Human Complex Diseases and Traits. **American Journal of Human Genetics**. v. 89, n. 5, p. 607-618, 2011.

SNIEDER, H., HARSHFIELD, G. A.; TREIBER, F. A. Heritability of blood pressure and hemodynamics in African- and European-American youth. **Hypertension**. v. 41, n. 6, p. 1196-1201, 2003.

SPEICHER, M., ANTONARAKIS, S. E.; MOTULSKY, A. G. **Vogel and Motulsky's Human Genetics**. 4th. 2010. 1006p.

SPOSITO, A. C., CARAMELLI, B., FONSECA, F. A. H., BERTOLAMI, M. C., AFIUNE NETO, A., SOUZA, A. D., *et al.* IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 88, n. p. 2-19, 2007.

SUNG J, LEE K, SONG Y-M. Heritabilities of the Metabolic Syndrome Phenotypes and Related Factors in Korean Twins. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, p. 4946-4952, 2009.

TANG, W., HONG, Y., PROVINCE, M. A., RICH, S. S., HOPKINS, P. N., ARNETT, D. K., *et al.* Familial Clustering for Features of the Metabolic Syndrome. **Diabetes Care**. v. 29, n. 3, p. 631-636, 2006.

THOMPSON, E. A. Identity by Descent: Variation in Meiosis, Across Genomes, and in Populations. **Genetics**. v. 194, n. 2, p. 301-326, 2013.

TRAYHURN, P., *et al.*, Leptin: fundamental aspects. **International Journal Obesity Related Metabolic Disorders**, v. 23, Suppl 1: p. 22-8, 1999.

TRAYHURN, P., C. BING, AND I.S. WOOD, Adipose Tissue and Adipokines—Energy Regulation from the Human Perspective. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n.7, p. 1935S-1939S, 2006.

TRITOS, N. A.; MANTZOROS, C. S. Leptin: its role in obesity and beyond. **Diabetologia**. v. 40, n. 12, p. 1371-1379, 1997.

UKKOLA, O.; BOUCHARD, C. Role of candidate genes in the responses to long-term overfeeding: review of findings. **Obesity Reviews**. v. 5, n. 1, p. 3-12, 2004.

UKKOLA, O., TREMBLAY, A., DESPRÉS, J. P., CHAGNON, Y. C., CAMPFIELD, L. A.; BOUCHARD, C. Leptin receptor Gln223Arg variant is associated with a cluster of metabolic abnormalities in response to long-term overfeeding. **Journal of Internal Medicine**. v. 248, n. 5, p. 435-439, 2000.

VALLE AM, RADIC Z, RANA BK, MAHBOUBI V, WESSEL J, SHIH P-AB, RAO F, O'CONNOR DT, TAYLOR P. Naturally Occurring Variations in the Human Cholinesterase Genes: Heritability and Association with Cardiovascular and Metabolic Traits. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 338, p. 125-133, 2011.

VAN DER VLEUTEN, G. M., KLUIJTMANS, L. A., HIJMANS, A., BLOM, H. J., STALENHOF, A. F.; DE GRAAF, J. The Gln223Arg polymorphism in the leptin receptor is associated with familial combined hyperlipidemia. **International Journal of Obesity (London)**. v. 30, n. 6, p. 892-898, 2006.

VARILO, T.; PELTONEN, L. Isolates and their potential use in complex gene mapping efforts. **Current Opinion in Genetics & Development**. v. 14, n. 3, p. 316-323, 2004.

VATTIKUTI, S., GUO, J. e CHOW, C. C. Heritability and Genetic Correlations Explained by Common SNPs for Metabolic Syndrome Traits. **PLoS Genetic**. v. 8, n. 3, p. e1002637, 2012.

VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G., GAZZINELLI, A., CÔRREA-OLIVEIRA, R., PIMENTA, A. M.; KAC, G. Prevalence of metabolic syndrome in a rural area of Brazil. **São Paulo Medicine Journal**. v. 125, n. 3, p. 155-162, 2007a.

VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G., PARRA, F. C., GAZZINELLI, A., WILLIAMS-BLANGERO, S.; CORREA-OLIVEIRA, R. Genetic Determinants of Risk Factors for Cardiovascular Disease in a Population from Rural Brazil. **Human Biology**. v. 79, n. 2, p. 179-190, 2007b.

VETTER, M. L., WADDEN, T. A., CHITTAMS, J., DIEWALD, L. K., PANIGRAHI, E., VOLGER, S., *et al.* Effect of lifestyle intervention on cardiometabolic risk factors: results of the POWER-UP trial. **International Journal of Obesity**. v. 37, n. S1, p. S19-S24, 2013.

VIGITEL, M. D. S.-. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde.** <http://www.sbpt.org.br/downloads/arquivos/vigitel_2012.pdf> Pages. Disponível em: Acesso em: 20 de setembro de 2012.

VISSCHER, P. M., HILL, W. G. e WRAY, N. R. Heritability in the genomics era concepts and misconceptions. **Nature Reviews Genetic**. v. 9, n. 4, p. 255-266, 2008.

VOHNOUT, B., GIANFAGNA, F., LORENZET, R., CERLETTI, C., DE GAETANO, G., DONATI, M. B., *et al.* Genetic regulation of inflammation-mediated activation of haemostasis: family-based approaches in population studies. **Nutrition Metabolism Cardiovascular Disease**. v. 21, n. 11, p. 857-861, 2011.

WAGENKNECHT, L. E., ZACCARO, D., ESPELAND, M. A., KARTER, A. J., O'LEARY, D. H.; HAFFNER, S. M. Diabetes and Progression of Carotid Atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 23, n. 6, p. 1035-1041, 2003.

WALSH, S., HADDAD, C. J., KOSTEK, M. A., ANGELOPOULOS, T. J., CLARKSON, P. M., GORDON, P. M., *et al.* Leptin and leptin receptor genetic variants associate with habitual physical activity and the arm body composition response to resistance training. **Gene**. v. 510, n. 1, p. 66-70, 2012.

WANG, T.-N., HUANG, M.-C., CHANG, W.-T., KO, A. M.-S., TSAI, E.-M., LIU, C.-S., *et al.* G-2548A Polymorphism of the Leptin Gene Is Correlated with Extreme Obesity in Taiwanese Aborigines. **Obesity (Silver Spring)**. v. 14, n. 2, p. 183-187, 2006.

WANG, X., DING, X., SU, S., SPECTOR, T. D., MANGINO, M., ILIADOU, A., *et al.* Heritability of insulin sensitivity and lipid profile depend on BMI: evidence for gene-obesity interaction. **Diabetologia**. v. 52, n. 12, p. 2578-2584, 2009.

WARDLE, J., CARNELL, S., HAWORTH, C. M.; PLOMIN, R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 87, n. 2, p. 398-404, 2008.

WAUTERS, M., MERTENS, I., CHAGNON, M., RANKINEN, T., CONSIDINE, R. V., CHAGNON, Y. C., *et al.* Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**. v. 25, n. 5, p. 714-720, 2001a.

WAUTERS, M., MERTENS, I., RANKINEN, T., CHAGNON, M., BOUCHARD, C.; VAN GAAL, L. Leptin Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with Insulin in Obese Women with Impaired Glucose Tolerance. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 86, n. 7, p. 3227-3232, 2001b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **Physical status**: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO, 1995. 36 p. (WHO Technical Report Series, 854).

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ WHO. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 2000. 253p. Disponível em: < <http://www.who.int/en/>>. Acesso em: 8 de janeiro de 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ WHO. **Preventing Disease Through Healthy Environments** - Towards an estimate of the environmental burden of disease, 2006a. Geneva. 2006b. Disponível em: < <http://www.who.int/en/>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ WHO. **Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia** - Geneva, Report of a WHO/IDF Consultation, 2006b. Switzerland. 2006a. Disponível em: < <http://www.who.int/en/>>. Acesso em: 8 de janeiro de 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ WHO. **Waist Circumference and Waist-Hip Ratio** Report of a WHO Expert Consultation, Geneva. 2008. Disponível em: < <http://www.who.int/en/>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ WHO. **Noncommunicable diseases**. Fact Sheets. Updated March 2013. Geneva:WHO, 2013a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/>>. Acesso em: 12 de junho de 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ WHO. **Obesity and overweight**. Fact Sheets 311. Updated March 2013, 2013. Geneva:WHO, 2013b. Disponível em:<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 12 de junho de 2012.

WILLIAMS-BLANGERO, S.; BLANGERO, J. Collection of Pedigree Data for Genetic Analysis in Isolate Populations Human Biology **Human Biology**. v. 78, n. 1, p. 89-101, 2006.

WRIGHT, A. F., CAROTHERS, A. D.; PIRASTU, M. Population choice in mapping genes for complex diseases. **Nature Genetics**. v. 23, n. 4, p. 397-404, 1999.

YANG, G. P., PENG, S. H., ZUO, S. Y., WANG, Y. R., PENG, X. N.; ZENG, X. M. Meta-analysis on the relationship between leptin receptor Gln223Arg and Pro1019Pro gene polymorphism and obesity in the Chinese population. [Abstract]. **Zhonghua liu xing bing xue za zhi**. v. 32, n. 10, p. 1037-1042, 2011.

YIANNAKOURIS, N., YANNAKOULIA, M., MELISTAS, L., CHAN, J., KLIMIS-ZACAS, D.; MANTZOROS, C. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 86, n. p. 4434 - 4439, 2001.

ZABANEH, D., CHAMBERS, J., ELLIOTT, P., SCOTT, J., BALDING, D.; KOONER, J. Heritability and genetic correlations of insulin resistance and component phenotypes in Asian Indian families using a multivariate analysis. **Diabetologia**. v. 52, n. 12, p. 2585-2589, 2009.

ZHANG, F., BASINSKI, M. B., BEALS, J. M., BRIGGS, S. L., CHURGAY, L. M., CLAWSON, D. K., *et al.* Crystal structure of the obese protein Ieptin-E100. **Nature**. v. 387, n. 6629, p. 206-209, 1997.

**ANEXO A – Aprovação do projeto de pesquisa em área rural no Comitê de Ética em
Pesquisa da UFMG**

UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

Parecer nº. ETIC 144/04

**Interessado: Prof. Dr. Jorge Gustavo Velásquez Meléndez
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 18 de novembro de 2004, após atendidas as solicitações à diligência, o projeto de pesquisa intitulado « **Fatores de Riscos Cardiovasculares, Doenças Crônicas e Hereditabilidade em Área Rural de Minas Gerais** » bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG

ANEXO B - Questionário utilizado na pesquisa em área rural, Vale Do Jequitinhonha

QUESTIONÁRIO	EVOLUÇÃO DE INDICES DE OBESIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES E SUA RELAÇÃO COM HABITOS DE VIDA EM POPULAÇÕES DE ÁREA RURAL DE MINAS. LOCALIDADE: _____ NÚMERO DA CASA: _____ ENTREVISTADOR _____ DATA DA COLETA ____/____/____		
I. IDENTIFICAÇÃO/DEMOGRAFIA			
0	Nome completo		
1	Número da ID		
2	Cor (observação do entrevistador)	<input type="checkbox"/> 1. Branca <input type="checkbox"/> 2. Parda <input type="checkbox"/> 3. Preta <input type="checkbox"/> 4. Indígena <input type="checkbox"/> 5. Amarela	
3	Participante novo?	<input type="checkbox"/> 1. Não <input type="checkbox"/> 2. Sim	
I. AGORA VAMOS FALAR SOBRE ATIVIDADES FÍSICAS. PARA RESPONDER ESSAS PERGUNTAS VOCÊ DEVE SABER QUE:			
<p>→ ATIVIDADES FÍSICAS FORTES SÃO AS QUE EXIGEM GRANDE ESFORÇO FÍSICO E QUE FAZEM RESPIRAR MUITO MAIS RÁPIDO QUE O NORMAL.</p> <p>→ ATIVIDADES FÍSICAS MÉDIAS SÃO AS QUE EXIGEM ESFORÇO FÍSICO MÉDIO E QUE FAZEM RESPIRAR <u>UM POUCO MAIS RÁPIDO</u> QUE O NORMAL.</p> <p>→ EM TODAS AS PERGUNTAS SOBRE ATIVIDADE FÍSICA, RESPONDA SOMENTE SOBRE AQUELAS QUE DURAM PELO MENOS 10 MINUTOS SEGUIDOS.</p>			
4. Atualmente você trabalha? (0) Não → Pule para a questão 14 (ler a primeira frase da orientação anterior à pergunta) (1) Sim → Pule para a próxima questão			
5. Qual é o seu trabalho? _____			
6. Você trabalha quantas horas por dia? _____			
7. Você trabalha quantos dias por semana? _____			
SE ESTÁ TRABALHANDO: AGORA EU GOSTARIA QUE VOCÊ PENSASSE APENAS NAS ATIVIDADES QUE FAZ QUANDO ESTÁ TRABALHANDO.			
8. Quantos dias por semana você faz atividades físicas FORTES no seu trabalho? Por ex: trabalhar em obras, levantar e carregar objetos pesados, cortar lenha, trabalhar com enxada ou foice, etc. QUAL ATIVIDADE? _____ dias/semana			
9. SE FAZ A.F. FORTES: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia? _____ min			
10. Quantos dias por semana você caminha no seu trabalho? _____ dias/semana			
11. SE CAMINHA: Nos dias em que caminha, quanto tempo no total duram essas caminhadas por dia? _____ min			
12. Quantos dias por semana você faz outras atividades físicas MÉDIAS fora as caminhadas no seu trabalho? Por ex: levantar e carregar objetos leves, varrer, colher frutas, etc. QUAL ATIVIDADE? _____ dias/semana			
13. SE FAZ A.F. MÉDIAS: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia? _____ min			
AGORA EU GOSTARIA QUE VOCÊ PENSASSE APENAS NAS ATIVIDADES QUE FAZ QUANDO ESTÁ NO TERREIRO OU ROÇA DA SUA CASA, COMO TRABALHAR NA ROÇA OU VARRER O TERREIRO. LEMBRE DE NÃO REPETIR AS ATIVIDADES QUE VOCÊ JÁ DISSE ANTES E SÓ CONTAR AQUELAS QUE DURAM PELO MENOS 10 MINUTOS SEGUIDOS.			
14. Quantos dias por semana você faz atividades físicas FORTES no terreiro ou roça da sua casa? Por ex: capinar, cortar lenha, cavar, esfregar o chão, carregar objetos pesados, etc. QUAL ATIVIDADE? _____ dias p/ sem.			
15. SE FAZ A.F. FORTES: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia? _____ minutos			
16. Quantos dias por semana você faz atividades físicas MÉDIAS no terreiro ou roça da sua casa? Por ex: levantar e carregar pequenos objetos, colher frutas, varrer, lavar, etc. QUAL ATIVIDADE? _____ dias p/ sem.			

17. SE FAZ A.F. MÉDIAS: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia?	___ ___ minutos
AGORA EU GOSTARIA QUE VOCÊ PENSASSE APENAS NAS TAREFAS QUE FAZ DENTRO DE CASA, POR EXEMPLO: LEVANTAR E CARREGAR PEQUENOS OBJETOS, LIMPAR VIDROS, VARRER, LAVAR, ETC.	
18. Quantos dias por semana você faz atividades físicas MÉDIAS dentro da sua casa? QUAL ATIVIDADE?	___ dias p/ sem.
19. SE FAZ A.F. MÉDIAS: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia?	___ ___ minutos
AGORA EU GOSTARIA QUE VOCÊ PENSASSE APENAS NAS ATIVIDADES QUE FAZ NO SEU TEMPO LIVRE. LEMBRE DE NÃO REPETIR AS ATIVIDADES QUE VOCÊ JÁ DISSE ANTES E SÓ CONTAR AQUELAS QUE DURAM PELO MENOS 10 MINUTOS SEGUIDOS.	
20. Quantos dias por semana você faz caminhadas no seu tempo livre?	___ dias p/ semana
21. SE CAMINHA: Nos dias em que você faz essas caminhadas, quanto tempo no total elas duram por dia?	___ ___ minutos
22. Quantos dias por semana você faz atividades físicas FORTES no seu tempo livre? Por ex.: correr, jogar futebol, pedalar em ritmo rápido, etc. QUAL ATIVIDADE?	___ dias p/ sem.
23. SE FAZ A.F. FORTES: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia?	___ ___ minutos
24. Quantos dias por semana você faz atividades físicas MÉDIAS fora as caminhadas no seu tempo livre? Por ex.: pedalar em ritmo médio, tomar banho no rio, praticar esportes por diversão, etc. QUAL ATIVIDADE?	___ dias p/ sem.
25. SE FAZ A.F. MÉDIAS: Nos dias em que você faz essas atividades, quanto tempo no total elas duram por dia?	___ ___ minutos
AGORA EU GOSTARIA QUE VOCÊ PENSASSE COMO SE DESLOCA DE UM LUGAR AO OUTRO QUANDO ESTE DESLOCAMENTO DURA PELO MENOS 10 MINUTOS SEGUIDOS. PODE SER A IDA E VINDA DO TRABALHO OU QUANDO VAI FAZER COMPRAS, VISITAR A AMIGOS, ETC.	
26. Quantos dias por semana você usa a bicicleta para ir de um lugar a outro?	___ dias p/ semana
27. SE USA BICICLETA: Nesses dias, quanto tempo no total você pedala por dia?	___ ___ minutos
28. Quantos dias por semana você caminha para ir de um lugar a outro?	___ dias p/ semana
29. SE CAMINHA: Nesses dias, quanto tempo no total você caminha por dia?	___ ___ minutos

II. SITUAÇÃO CONJUGAL		
30	Você vive em companhia de cônjuge ou companheiro?	() 1. Sim () 2. Não, mas já viveu () 3. Nunca viveu
31	Qual o seu estado civil atual?	[] 1. Casado(a) ou em união [] 2. Solteiro(a) [] 3. Separado(a)/divorciado(a) [] 4. Viúvo(a)
32	Há quanto tempo você está na situação atual?	___ ano(s) ___ meses (<1ano) ___ Não lembra
III. ESCOLARIDADE		
33	Você pode ler uma carta ou jornal:	[] 1. Facilmente [] 2. Com dificuldade [] 3. Não consegue ler
34	Qual foi a última série e o grau que você completou?	___ série/ ___ grau
35	Número de anos completos de escolaridade (entrevistador)	

IV. CONDIÇÕES SOCIOECONÔMICAS		
36	Quais e quantos dos itens abaixo há em sua casa? a-Televisão em cores b-Rádio c-Banheiro d-Automóvel e-Empregada mensalista f-Máquina de lavar g-Videocassete/ e ou DVD h-Geladeira i-Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____ Qtd.._____ 4 ou + _____
37	Qual o grau de instrução do chefe da família?	<input type="checkbox"/> 1. Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental (1º. Grau) <input type="checkbox"/> 2. Até 4ª série Fundamental (1º. Grau) <input type="checkbox"/> 3. Fundamental completo/ 1º. Grau completo <input type="checkbox"/> 4. Médio completo/ 2º. Grau completo <input type="checkbox"/> 5. Superior completo

V. HÁBITOS ALIMENTARES		
38	Quantos dias na <u>semana</u> você costumar comer <u>frutas</u> ?	<input type="checkbox"/> 1. todos os dias <input type="checkbox"/> 2. 5 a 6 dias <input type="checkbox"/> 3. de 1 a 4 dias (pule para 38) <input type="checkbox"/> 4. quase nunca ou nunca (pule para 38) QUAIS? _____
39	Num dia comum, quantas vezes você come <u>frutas</u> ?	<input type="checkbox"/> 1. 1 vez no dia <input type="checkbox"/> 2. 2 vezes no dia <input type="checkbox"/> 3. 3 ou mais vezes no dia
40	Quantos dias na <u>semana</u> você costuma comer <u>saladas cruas</u> , como alface, tomate, pepino?	<input type="checkbox"/> 1. todos os dias <input type="checkbox"/> 2. 5 a 6 dias <input type="checkbox"/> 3. de 1 a 4 dias (pule para 40) <input type="checkbox"/> 4. quase nunca ou nunca (pule para 40) QUAIS? _____
41	Num dia comum, você come <u>saladas cruas</u> :	<input type="checkbox"/> 1. no almoço (1 vez no dia) <input type="checkbox"/> 2. no jantar ou <input type="checkbox"/> 3. no almoço e no jantar (2 vezes no dia)
42	Quantos dias na semana você costuma comer verduras e legumes cozidos, como couve, cenoura, chuchu, berinjela, abobrinha, sem contar batata ou mandioca?	<input type="checkbox"/> 1. todos os dias <input type="checkbox"/> 2. 5 a 6 dias <input type="checkbox"/> 3. de 1 a 4 dias (pule para 42) <input type="checkbox"/> 4. quase nunca ou nunca (pule para 42) QUAIS? _____
43	Num dia comum, você come verduras e legumes cozidos:	<input type="checkbox"/> 1. no almoço <input type="checkbox"/> 2. no jantar ou <input type="checkbox"/> 3. no almoço e no jantar QUAIS? _____
44	Em quantos dias da semana você come feijão?	<input type="checkbox"/> 1. todos os dias (inclusive sábado e domingo) <input type="checkbox"/> 2. 5 a 6 dias por semana <input type="checkbox"/> 3. 3 a 4 dias por semana <input type="checkbox"/> 4. 1 a 2 dias por semana <input type="checkbox"/> 5. quase nunca <input type="checkbox"/> 6. nunca
45	Em quantos dias da semana você toma refrigerante?	<input type="checkbox"/> 1. todos os dias <input type="checkbox"/> 2. 5 a 6 dias por semana <input type="checkbox"/> 3. 3 a 4 dias por semana <input type="checkbox"/> 4. 1 a 2 dias por semana <input type="checkbox"/> 5. quase nunca (pule para 46) <input type="checkbox"/> 6. nunca (pule para 46)
46	Que tipo?	<input type="checkbox"/> 1. normal <input type="checkbox"/> 2. diet/light <input type="checkbox"/> 3. ambos
47	Quantos copos/latinhas costuma tomar por dia?	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 ou +
48	Você costuma tomar leite? (não vale soja)	<input type="checkbox"/> 1. não (pule para 48) <input type="checkbox"/> 2. sim
49	Quando você toma leite, que tipo de leite costuma tomar?	<input type="checkbox"/> 1. Integral <input type="checkbox"/> 2. desnatado ou semi-desnatado <input type="checkbox"/> 3. os dois tipos <input type="checkbox"/> 4. não sabe
50	Você costuma comer carne de boi ou porco?	<input type="checkbox"/> 1. não (pule para 50) <input type="checkbox"/> 2. sim

51	Quando você come carne de boi ou porco com gordura, você costuma:	<input type="checkbox"/> 1. tirar sempre o excesso de gordura <input type="checkbox"/> 2. comer com a gordura <input type="checkbox"/> 3. não come carne vermelha com muita gordura	
52	Você costuma comer frango?	<input type="checkbox"/> 1. não (pule para 52) <input type="checkbox"/> 2. sim	
53	Quando você come frango com pele, você costuma:	<input type="checkbox"/> 1. tirar sempre a pele <input type="checkbox"/> 2. comer com a pele <input type="checkbox"/> 3. não come pedaços de frango com pele	
54	Você está fazendo atualmente alguma dieta para perder peso?	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim (pule para 54)	
55	Nos últimos doze meses, você fez alguma dieta para perder peso?	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim	
56	Atualmente, você está fazendo uso ou tomando algum produto ou medicamento para perder peso?	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim (pule para 56)	
57	Nos últimos doze meses, você tomou algum produto ou medicamento para perder peso?	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim	
58	Você costuma consumir bebida alcoólica?	<input type="checkbox"/> 1. não consumo (pule para 62) <input type="checkbox"/> 2. sim <input type="checkbox"/> 3. sim, mas não nos últimos 30 dias (pule para 62) <input type="checkbox"/> 4. nunca consumi (pule para 62)	
59	Com que frequência você costuma ingerir alguma bebida alcoólica?	<input type="checkbox"/> 1. todos os dias <input type="checkbox"/> 2. 5 a 6 dias por semana <input type="checkbox"/> 3. 3 a 4 dias por semana	<input type="checkbox"/> 4. 1 a 2 dias por semana <input type="checkbox"/> 5. quase nunca (pule para 62) <input type="checkbox"/> 6. nunca (pule para 62)
60	No último mês, você chegou a consumir num único dia mais do que 2 latas de cerveja ou mais do que 2 taças de vinho ou mais do que 2 doses de qualquer outra bebida alcoólica? (apenas para homens)	<input type="checkbox"/> 1. não (pule para 62) <input type="checkbox"/> 2. sim	
61	No último mês, você chegou a consumir num único dia mais do que 1 lata de cerveja ou mais do que 1 taça de vinho ou mais do que 1 dose de qualquer outra bebida alcoólica? (apenas para mulheres)	<input type="checkbox"/> 1. não (pule para 62) <input type="checkbox"/> 2. sim	
62	E mais de 5? (apenas para homens)	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim	
63	E mais de 4? (apenas para mulheres)	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim	
64	Você costuma adicionar sal na comida pronta, no seu prato, <u>sem contar a salada</u> ?	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim, sempre <input type="checkbox"/> 3. sim, de vez em quando	

VI. ESTADO DE SAÚDE

65	Você classificaria seu estado de saúde como:	<input type="checkbox"/> 1. excelente <input type="checkbox"/> 2. bom <input type="checkbox"/> 3. regular	<input type="checkbox"/> 4. ruim <input type="checkbox"/> 5. não sabe <input type="checkbox"/> 6. não quis informar	
VII. História Obstétrica (apenas para as mulheres)				
66	Você está grávida atualmente?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder		
67	Quantas vezes você já ficou grávida?	67	Quantos partos você teve?	
68	Quantos filhos nasceram vivos?	69	Quantos filhos nasceram mortos?	
70	Alguma vez teve gravidez que resultou em aborto?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM	71	Nº de abortos espontâneos
72	Nº de abortos provocados	73	Com quantos anos você teve seu primeiro parto?	
74	Com quantos anos você ficou menstruada pela primeira vez?	75	Você menstrua atualmente?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM (pule para 80)
76	Há quanto tempo parou de menstruar?	77	Com que idade parou de menstruar?	_____ meses _____ anos

VIII. DOENÇAS E RISCOS CARDIOVASCULARES		
78	Alguma vez algum profissional de saúde já disse que sua pressão estava alta ou que você tinha hipertensão arterial?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder
79	Alguma vez o profissional de saúde já disse que você tinha diabetes (açúcar alto no sangue ou na urina)?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder
80	Você faz uso de algum medicamento?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM, para a Pressão <input type="checkbox"/> 3. SIM, para o Diabetes <input type="checkbox"/> 4. SIM, para o Colesterol <input type="checkbox"/> 5. SIM, para o Diabetes e a Pressão

81	Alguma vez algum profissional de saúde já disse que você teve a- Infarto (ataque do coração)? b- AVC ou derrame cerebral? c- Angina de peito (má circulação no coração)? d- Febre reumática? e- Doença do rim (pedra, cálculo, nefrite, insuficiência)? f- Trombose ou embolia? g- Enfisema, bronquite, DPOC? h- Asma? i- Artrose, artrite, reumatismo ou problema nas juntas? j- Cirrose do fígado, hepatite? l- Câncer? m- Insuficiência cardíaca?	<input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder <input type="checkbox"/> 1. NÃO <input type="checkbox"/> 2. SIM <input type="checkbox"/> 99. Não Sabe/Recusa a responder
82	Você é ou já foi fumante, ou seja, já fumou, ao longo da sua vida, pelo menos 100 cigarros (5 maços de cigarro)?	<input type="checkbox"/> 1. não <input type="checkbox"/> 2. sim
83	Quantos cigarros você fuma por dia?	_____
84	Você já tentou parar de fumar?	<input type="checkbox"/> 1.não <input type="checkbox"/> 2. sim
85	Que idade você tinha quando começou a fumar regularmente? (Só aceita > 5 anos)	_____ anos <input type="checkbox"/> não lembra
86	Que idade você tinha quando parou de fumar?	_____ anos <input type="checkbox"/> não lembra

IX. ANTROPOMETRIA							
87	Data da coleta	_____/_____/_____		88	Peso medido (Kg)_____ Kg		
89	P.A sistólica (mmHg)	1		90	P.A diastólica (mmHg)	1	
		2				2	
		3				3	
		x				x	
91	Estatura (cm)	1		92	E. sentada(cm)	1	
		2				2	
		3				3	
		x				x	
93	C. cintura (cm)	1		94	C.braço (cm)	1	
		2				2	
		3				3	
		x				x	
95	P. Tricipital (cm)	1		96		1	
		2				2	
		3				3	
		x				x	

ANEXO C - Aprovação do projeto de pesquisa em área urbana no Comitê de Ética de Montes Claros

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE DO RECEPTOR DA LEPTINA (GLN223ARG), OBESIDADE E SUA POTENCIAL ASSOCIAÇÃO COM A ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES NO CONTEXTO DO AMBIENTE FÍSICO E PERCEBIDO: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Pesquisador: Jorge Gustavo Velasquez Melendez

Área Temática: Área 1. Genética Humana.
(Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 1

CAAE: 11858412.5.0000.5149

Instituição Proponente: PRO REITORIA DE PESQUISA ((UFMG))

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 226.604

Data da Relatoria: 22/03/2013

Apresentação do Projeto:

Estudo populacional com base de dados secundários originada de projeto que foi anteriormente realizado, sendo o mesmo observacional, de delineamento transversal pertencente ao projeto intitulado: "Polimorfismo do gene do receptor da leptina (Gln223Arg), obesidade e sua associação com fatores de risco para as doenças cardiovasculares em Montes Claros- Minas Gerais". Nesse projeto foi aplicado questionário semiestruturado que contém investigações sobre os aspectos socioeconômicos e demográficos, clínicos como pressão arterial e glicemia, medidas antropométricas e de composição corporal, hábitos de vida além de comorbidades autorreferidas.

Objetivo da Pesquisa:

Estimar a prevalência e a associação do polimorfismo do receptor de leptina (Gln223Arg) e fatores de risco cardiometabólicos no contexto de ambiente construído e social na população urbana de Montes Claros.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não foram previstos por se tratar de dados secundários; os aspectos éticos foram preservados em estudo anterior.

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n- Camp Univers Profº Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** maisa.leite@unimontes.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MONTES CLAROS -
UNIMONTES



Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As doenças cardiovasculares representam a principal causa morbidade e mortalidade no mundo. A variabilidade genética esclarece parte da variação da expressão gênica em populações humanas, sendo a proporção significativa da variação biológica e do risco cumulativo para muitos riscos em saúde como a obesidade. espera-se que as novas estratégias de análise estatística que contemplam interações gene-ambiente possam contribuir para o dimensionamento de modificações genéticas e suas relações.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estão anexados parecer consubstanciado de aprovação da instituição proponente e demais termos de apresentação obrigatória

Recomendações:

Apresentar relatório ao final do estudo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto foi apreciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e entende que o mesmo atende os preceitos éticos da pesquisa em seres humanos.

MONTES CLAROS, 22 de Março de 2013

Assinador por:
Máisa Tavares de Souza Leite
(Coordenador)

Endereço: Av. Dr Rui Braga s/n-Camp Univers Profº Darcy Rib
Bairro: Vila Mauricéia **CEP:** 39.401-089
UF: MG **Município:** MONTES CLAROS
Telefone: (38)3229-8180 **Fax:** (38)3229-8103 **E-mail:** maisa.leite@unimontes.br

ANEXO D – Aprovação do projeto de pesquisa em área urbana no Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE DO RECEPTOR DA LEPTINA (GLN223ARG), OBESIDADE E SUA POTENCIAL ASSOCIAÇÃO COM A ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES NO CONTEXTO DO AMBIENTE FÍSICO E PERCEBIDO: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Pesquisador: Jorge Gustavo Velasquez Melendez

Área Temática: Área 1. Genética Humana.
(Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 1

CAAE: 11858412.5.0000.5149

Instituição Proponente: PRO REITORIA DE PESQUISA ((UFMG))

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 213.555

Data da Relatoria: 30/01/2013

Apresentação do Projeto:

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo. A variabilidade genética esclarece parte da variação da expressão gênica em populações humanas. Muitos genes vêm sendo estudados, entre eles o gene do receptor da leptina que possui o polimorfismo Gln223Arg, o qual foi anteriormente relacionado ao sobrepeso e obesidade, entre outros fatores de risco cardiometabólicos. Por outro lado, o conceito de ambiente propiciador da obesidade, denominado ambiente obesogênico, tem sido mostrado como um potencial contribuinte do ganho de peso e, conseqüentemente, aumento das prevalências de excesso de peso em diversas populações, piorando dessa forma o quadro de morbidades associadas às doenças crônicas não transmissíveis. Ainda não é conhecida no Brasil a prevalência do polimorfismo do gene do receptor da leptina obtidos por meio de estudos de base populacional com amostragem probabilística. Além disso, há poucos dados sobre o potencial impacto da presença desse polimorfismo sobre composição corporal dos indivíduos em um contexto de condições de ambiente que podem também potencialmente afetar o desenvolvimento da obesidade ou de outras doenças crônicas. Assim sendo, o objetivo do presente estudo é estimar a prevalência e a associação do polimorfismo do receptor de leptina (Gln223Arg) e fatores de risco

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



cardiometabólicos no contexto de ambiente construído e social na população urbana de Montes Claros, MG. Será utilizada base de dados do projeto que foi anteriormente realizado durante o ano de 2012 em Montes Claros, MG, sendo o mesmo observacional, de delineamento transversal pertencente ao projeto intitulado: "Polimorfismo do gene do receptor da leptina (Gln223Arg), obesidade e sua associação com fatores de risco para as doenças cardiovasculares em Montes Claros- Minas Gerais". Nesse projeto já foi obtido o TCLE dos participantes e foi aplicado questionário semi-estruturado que contém investigações sobre os aspectos socioeconômicos e demográficos, clínicos como pressão arterial e glicemia, medidas antropométricas e de composição corporal, hábitos de vida além de comorbidades auto referidas. Foram adotadas as recomendações já consagradas na literatura para aferição da pressão arterial, dosagem da glicemia e para as medidas antropométricas e de composição corporal.

Para a coleta do DNA genômico foram realizados raspados de mucosa oral com espátulas tipo swab estéreis e o material foi processado de acordo com as recomendações, sendo armazenado a -20 °C no Laboratório de Pesquisa em Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros para a futura extração do DNA. Para a genotipagem, o DNA extraído será amplificado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). Por fim, o processo de georreferenciamento para caracterizar o ambiente construído, consistirá na captura das informações do Sistema de Posicionamento Global (GPS) com as coordenadas latitude e longitude, mediante o CEP (o qual indica o centroide da rua). Para caracterizar os fatores do ambiente construído é desenvolvida uma base com os supermercados, superlojas e hipermercados de Montes Claros. A lista com os endereços e os CEP dos supermercados, superlojas e hipermercados será solicitada e disponibilizada pela Câmara de Dirigentes Lojistas de Montes Claros (CDL) e atualizada com base no GoogleMaps.

Foi calculada amostragem probabilística por conglomerados totalizando 750 participantes, com idade maior ou igual a 18 anos de ambos os gêneros. Foi aplicado questionário semi-estruturado que continha questões sobre os aspectos socioeconômicos e demográficos, fatores de risco para as doenças crônicas não transmissíveis e comorbidades auto referidas. A presença de fatores de risco foi verificada através do índice de massa corporal, pressão arterial, glicemia, hábitos e estilo de vida, além do nível de atividade física.

Conforme supracitado, a coleta de dados epidemiológicos foi realizada e estão completas. Para a continuidade deste projeto de pesquisa, serão utilizados os dados anteriormente coletados dentre os quais se incluem medidas antropométricas, de composição corporal e dados do polimorfismo do receptor da leptina (LEPR Gln223Arg). Além disso, dados do ambiente físico serão obtidos por meio das coordenadas geográficas do domicílio do participante usando ferramentas apropriadas

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



contidas na internet, serão estimadas as prevalências do polimorfismo, por meio de associações bivariadas e multivariadas com ajustes para variáveis potencialmente confundidoras.

Para a análise dos dados individuais e dos dados ambientais, será utilizado o módulo survey, do pacote estatístico Statistical Software for Professional (STATA), em sua versão 12, que considera na análise os diversos aspectos do delineamento complexo de amostragem. Para a caracterização da amostra, serão apresentadas tabelas de distribuição de frequências das variáveis estudadas. As variáveis ambientais serão descritas por meio de medidas de tendência central e de dispersão. Nas análises univariadas e multivariadas serão utilizadas como medida de associação a Razão de Prevalência (RP), calculada com o auxílio da técnica de regressão de Poisson com estimador de variância robusta, por se tratar de um delineamento transversal cujo desfecho pesquisado é frequente. As diferenças estatísticas serão avaliadas segundo a razão de pseudoverossimilhança e pelo teste de Wald. Inicialmente será trabalhado com a modelagem multinível em dois níveis: o indivíduo como unidade do nível 1 e o setor censitário como unidade do nível 2. Esta opção da modelagem multinível é baseada no fato de que os modelos de regressão tradicionais partem do princípio de que as pessoas estudadas são independentes entre si em relação ao desfecho; todas as variáveis são tratadas como sendo do mesmo nível; e ignorar o nível dos dados pode levar a uma compreensão incompleta dos determinantes das doenças nos indivíduos e nas populações. Esta técnica estabelece que indivíduos que pertencem a um mesmo grupo estão submetidos a um contexto semelhante. Para a análise multinível, será utilizado o comando XT Mixed no módulo survey do STATA 12. Espera-se que as novas estratégias de análise estatística que contemplam interações gene-ambiente possam contribuir para o dimensionamento de modificações genéticas e suas relações.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Estimar a prevalência e a associação do polimorfismo do receptor de leptina (Gln223Arg) e fatores de risco cardiometabólicos, no contexto de ambiente construído e sócio, na população urbana de Montes Claros.

Objetivos Secundários:

- Estimar a prevalência do polimorfismo do receptor da leptina (Gln223Arg) na população de adulta de Montes Claros, MG;
- Investigar possíveis associações do polimorfismo do receptor de leptina (Gln223Arg) com fatores clínicos, medidas de excesso de peso e composição corporal;
- Estimar associações entre variáveis ambientais e individuais com fatores de risco cardiometabólicos na população adulta de Montes Claros, MG.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não se aplica, a proposta é baseada em dados já coletados.

Benefícios:

Não se aplica, a proposta é baseada em dados já coletados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é relevante, exequível, está bem fundamentado. Os participantes do estudo, o processo de análise e o tratamento dos dados estão bem descritos. Entretanto, alguns comentários são necessários.

Comentários:

Discutir em plenária a necessidade de trâmite na CONEP.

Discutir em plenária a necessidade de aprovação pelo COEP UFMG.

Atualizar o cronograma do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

Folha de Rosto

Parecer consubstanciado da Câmara Departamental ζ Departamento de Enfermagem Materno Infantil e Saúde Pública - UFMG

Termo de compromisso dos pesquisadores

Aprovação do Comitê de Ética de Montes Claros

Declaração de Autorização de utilização do banco de dados anteriormente elaborado para a continuidade do projeto intitulado ζ Prevalência do Polimorfismo do Gene do Receptor da Leptina (Gln223arg), Obesidade e sua Associação com Fatores de Risco para as Doenças Cardiovasculares em Montes Claros - Minas Gerais ζ .

Declaração de Participação entre Instituições: Universidade Federal de Minas Gerais ζ Pós-Graduação em Saúde e Enfermagem e Universidade Estadual de Montes Claros ζ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Recomendações:

Diante do exposto, s.m.j., sou pela aprovação do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado conforme parecer.

BELO HORIZONTE, 07 de Março de 2013

Assinador por:
Maria Teresa Marques Amaral
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

ANEXO E - Questionário utilizado no estudo em área urbana, Montes Claros-MG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E ENFERMAGEM
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



**QUESTIONÁRIO DE FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CRÔNICAS
NÃO TRANSMISSÍVEIS**

Num Questionário:

Data: ___/___/12 Num. Setor Censitário _____ N. Domicílio: _____

Início: ___:___:___ Fim: ___:___:___ Tempo: ___ h ___ min. Entrevistador(a): _____

O (A) Sr. (a), por favor, poderia me fornecer o seu:

NOME: _____ CEP: _____

ENDEREÇO: _____

BAIRRO: _____ TELEFONES: _____

1- SEXO do entrevistado (a)

1- Masculino 2- Feminino

2- Qual a sua IDADE? _____ anos

3- Qual a melhor opção que define a SUA COR/ ETNIA:

1 - Preta/ ascendência negra

2 - Parda /morena

3 - Branca

4 - Vermelha /ascendência indígena

5 - Amarela/ ascendência oriental

4- Qual é o seu ESTADO CIVIL?

1 - Casado (a) , união consensual

2 - Desquitado (a), divorciado(a), separado(a), ex-união consensual

3 - Solteiro (a)

4 - Viúvo (a)

5 - QUAL é a sua PRINCIPAL OCUPAÇÃO atualmente?

1- Empregado de empresa privada

2- Funcionário público

3- Empresário/empregador

4- Profissional liberal/Autônomo

6- Aposentado/encostado

7- Desempregado

8 - Estudante

9- Outros. Especifique: _____

6- Qual o seu grau de ESCOLARIDADE?

1 - Analfabeto

2 - 4ª série incompleta (antigo primário incompleto)

3 - 4ª série completa (antigo primário completo)

4 - 8ª série incompleta (fundamental incompleto)

5 - 8ª série completa (fundamental completo)

6 - Médio incompleto (não terminou o 3º científico)

6 - Médio completo (terminou o 3º científico)

7 - Superior incompleto

8 - Superior completo

9 - Pós-graduação

7- Anos de estudo: _____

8- Qual é aproximadamente a RENDA TOTAL mensal da sua FAMÍLIA (das pessoas que moram com você)? R\$622,00 (salário vigente)

1- Menor que 1 salário mínimo

2- De 1 a 2 salários mínimos

3- De 2 a 4 salários mínimos

4- De 4 a 6 salários mínimos

5- De 6 a 8 salários mínimos

6- Maior que 8 salários mínimos

9- Quantidade de membros na família (considere as pessoas que moram juntas na mesma residência): _____ pessoas

10- História familiar: O seu pai ou sua mãe é obeso?

1- () somente a mãe 2- () somente o pai

3- () ambos 4- () nenhum deles

11- Quais e quantos dos itens abaixo há em sua casa (lembre-se que devem ser itens funcionantes)?

a-Televisão em cores	Qtde _____
b-Rádio (não vale do carro)	Qtde _____
c-Banheiro (tenha vaso sanitário)	Qtde _____
d-Automóvel (só carros. Não vale veículos que são usados somente para trabalho e se for usado para tal não contar)	Qtde _____
e-Empregada mensalista	Qtde _____
f-Máquina de lavar (não vale tanquinho)	Qtde _____
g-Videocassete/ e ou DVD	Qtde _____
h-Geladeira	Qtde _____
i-Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	Qtde _____

12- Qual o grau de instrução do CHEFE DA FAMÍLIA?

1- Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental (1º. Grau)

2- Até 4ª série Fundamental (1º. Grau)

3- Fundamental completo/ 1º. Grau completo

4- Médio completo/ 2º. Grau completo

5- Superior completo

As próximas perguntas são sobre **ATIVIDADE FÍSICA**.

Para responder, lembre-se que:

→ **ATIVIDADES FÍSICAS VIGOROSAS** são as que precisam grande esforço físico e fazem respirar muito mais rápido que o normal.

→ **ATIVIDADES FÍSICAS MODERADAS** são as que precisam esforço físico médio e fazem respirar um pouco mais forte que o normal.

→ Em todas as perguntas sobre atividade física, responda somente sobre aquelas que duram pelo menos 10 minutos seguidos .

SEÇÃO 1 – ATIVIDADES FÍSICAS NO TRABALHO

Esta seção inclui as atividades que você faz no seu serviço, que incluem trabalho remunerado ou voluntário, as atividades na escola ou faculdade e outro tipo de trabalho não remunerado fora da sua casa. **NÃO** incluir trabalho não remunerado que você faz na sua casa como tarefas domésticas, cuidar do jardim e da casa ou tomar conta da sua família. Estas serão incluídas na Seção 3.

13- Atualmente você trabalha ou faz trabalho voluntário fora de sua casa?

1- Não → Pule para a seção 2 – Transporte

2- Sim → Pule para a próxima questão

As próximas questões são relacionadas a toda atividade física que você faz em uma semana **USUAL** ou **NORMAL** como parte do seu trabalho remunerado ou não remunerado. **NÃO** inclua o transporte para o trabalho. Pense unicamente nas atividades que você faz por pelo menos 10 minutos contínuos :

14- Em quantos dias de uma semana normal você anda , durante pelo menos 10 minutos contínuos, como parte do seu trabalho? Por favor, **NÃO** inclua o andar como forma de transporte para ir ou voltar do trabalho. _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 16

15- Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** caminhando **COMO PARTE** do seu trabalho? _____ h _____ min.

16- Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades **MODERADAS**, por pelo menos 10 minutos contínuos, como carregar pesos leves como parte do seu trabalho? _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 18

17- Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades **MODERADAS** como parte do seu trabalho? _____ h _____ min.

18- Em quantos dias de uma semana normal você gasta fazendo atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como trabalho de construção pesada, carregar grandes pesos, trabalhar com enxada, escavar ou subir escadas como parte do seu trabalho: _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a seção 2 – Transporte

19- Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** fazendo atividades físicas **VIGOROSAS** como parte do seu trabalho? _____ h _____ min.

SEÇÃO 2 – ATIVIDADES FÍSICAS COMO MEIO DE TRANSPORTE

Estas questões se referem à forma típica como você se desloca de um lugar para outro, incluindo seu trabalho, escola, cinema, lojas e outros.

20- Em quantos dias de uma semana normal você anda de carro, moto, ônibus, metrô ou trem? _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 22

21- Quanto tempo no total você usualmente gasta **POR DIA** andando de carro, ônibus, metrô ou trem? _____ h _____ min.

Agora pense somente em relação a caminhar ou pedalar para ir de um lugar ao outro em uma semana normal (**NÃO** inclua pedalar por lazer ou exercício).

22- Em quantos dias de uma semana normal você anda de bicicleta por pelo menos 10 minutos contínuos para ir de um lugar para outro? _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 24

23- Nos dias que você pedala quanto tempo no total você pedala **POR DIA** para ir de um lugar para outro? _____ h _____ min.

24- Em quantos dias de uma semana normal você caminha por pelo menos 10 minutos contínuos para ir de um lugar para outro? (**NAO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício) _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a seção 3

25- Quando você caminha para ir de um lugar para outro quanto tempo **POR DIA** você gasta? (**NAO** inclua as caminhadas por lazer ou exercício) _____ h _____ min.

SEÇÃO 3 – ATIVIDADE FÍSICA EM CASA: TRABALHO, TAREFAS DOMÉSTICAS E CUIDAR DA FAMÍLIA

Esta parte inclui as atividades físicas que você faz em uma semana **NORMAL** na sua casa e ao redor da sua casa, por exemplo, trabalho em casa, cuidar do jardim, cuidar do quintal, trabalho de manutenção da casa ou para cuidar da sua família. Novamente pense somente naquelas atividades físicas que você faz por pelo menos 10 minutos contínuos .

26- Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer, rastelar no jardim ou quintal. _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 28

27- Nos dias que você faz este tipo de atividades **MODERADAS** no quintal ou jardim quanto tempo no total você gasta **POR DIA**? _____ h _____ min.

28- Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos como carregar pesos leves, limpar vidros, varrer ou limpar o chão DENTRO DA SUA CASA. _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 30

29- Nos dias que você faz este tipo de atividades MODERADAS dentro da sua casa quanto tempo no total você gasta POR DIA? _____ h _____ min

30- Em quantos dias de uma semana normal você faz atividades físicas VIGOROSAS no jardim ou quintal por pelo menos 10 minutos como capinar, lavar o quintal, esfregar o chão: _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a seção 4

31- Nos dias que você faz este tipo de atividades, quanto tempo no total você gasta POR DIA fazendo essas atividades VIGOROSAS no jardim ou no quintal? _____ h _____ min

SEÇÃO 4 – ATIVIDADES FÍSICAS DE RECREAÇÃO, ESPORTE, EXERCÍCIO E LAZER

Esta seção se refere às atividades físicas que você faz em uma semana NORMAL unicamente por recreação, esporte, exercício ou lazer. Novamente pense somente nas atividades físicas que faz por pelo menos 10 minutos contínuos. Por favor, NÃO inclua atividades que você já tenha citado.

32- Sem contar qualquer caminhada que você tenha citado anteriormente, em quantos dias de uma semana normal, você caminha por pelo menos 10 minutos contínuos no seu tempo livre? _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 34

33- Nos dias em que você caminha no seu tempo livre, quanto tempo no total você gasta POR DIA? _____ h _____ min

34- Em quantos dias de uma semana normal, você faz atividades MODERADAS no seu tempo livre por pelo menos 10 minutos, como pedalar ou nadar a velocidade regular, jogar bola, vôlei, basquete, tênis: _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a questão 36

35- Nos dias em que você faz estas atividades moderadas no seu tempo livre quanto tempo no total você gasta POR DIA? _____ h _____ min

36- Em quantos dias de uma semana normal, você faz atividades VIGOROSAS no seu tempo livre por pelo menos 10 minutos, como correr, fazer exercícios aeróbicos, nadar rápido, pedalar rápido ou fazer corrida: _____ dias/semana () Nenhum-Vá para a seção 5

37- Nos dias em que você faz estas atividades vigorosas no seu tempo livre quanto tempo no total você gasta POR DIA? _____ h _____ min

SEÇÃO 5 – TEMPO GASTO SENTADO

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

38- Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana? _____ h _____ min

39- Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de final de semana? _____ h _____ min

As próximas perguntas são sobre o HÁBITO DE FUMAR.

40- Você é ou já foi fumante, ou seja, já fumou, ao longo de sua vida, pelo menos 100 cigarros (cinco maços de cigarros)?

- 1- Sim
- 2- Ex-fumante
- 3- Não (se não, pule para a pergunta 45)

41- Com que idade você começou a fumar? _____ anos

42- Você fuma cigarros atualmente?

- 1- Sim
- 2- Não → Com que idade você parou de fumar pela última vez? _____ anos

43- Em geral, quantos cigarros por dia você fuma (ou fumava)? _____ cigarros () menos de 1 cigarro por dia

44- Ao todo, durante quantos anos você fumou ou fuma? (se for o caso, desconte os períodos em que você deixou de fumar) _____ anos () menos de 1 ano

As próximas perguntas são sobre o CONSUMO DE ÁLCOOL

45- O(a) Sr. (a) costuma CONSUMIR bebida alcoólica?

- 1- Sim
- 2- Não. (se não vá para a pergunta 48)

46- Com que frequência o(a) Sr(a) costuma consumir alguma bebida alcoólica?

- 1- 1 dia por semana
- 2- 2 dias por semana
- 3- 3 dias por semana
- 4- 4 dias por semana
- 5- 5 dias por semana
- 6- 6 dias por semana
- 7- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 8- menos de 1 dia por semana
- 9- menos de 1 dia por mês

47- Quantas **DOSES** o (a) Sr. (a) consome dessas bebidas nessa ocasião?

Considere uma dose : **meia garrafa ou 1 lata de cerveja, um cálice de vinho ou 1 dose de bebidas destiladas (aguardente, whisky, etc.)**

Dose: _____

Total _____

As próximas perguntas são sobre DOENÇAS E TRATAMENTOS

48- O Sr(a) classifica seu estado de saúde como:

- 1- Muito bom
- 2- Bom
- 3- Regular
- 4- Ruim
- 5- Muito Ruim
- 6- Não sabe
- 7- Não quis informar

49- Alguma vez o médico já disse que o (a) Sr. (a) tem alguma dessas **DOENÇAS**? Se sim, há quanto **TEMPO** o médico te filou pela primeira vez, confirmando o diagnóstico? Você faz **CONTROLE MÉDICO**?

	Doença	Presença da doença		Tempo Diagnostico (em meses)	Controle médico	
		Sim	Não		Sim	Não
1	Diabetes	Sim	Não		Sim	Não
2	Dislipidemia ou alteração no colesterol	Sim	Não		Sim	Não
3	Hipertensão arterial ou pressão alta	Sim	Não		Sim	Não
4	Cardíaca ou Vascular	Sim	Não		Sim	Não
5	Renal ou dorim	Sim	Não		Sim	Não
8	Neoplasia ou câncer	Sim	Não		Sim	Não
9	Psiquiátrica	Sim	Não		Sim	Não
10	Reumatismo ou das juntas, artrite, artrose	Sim	Não		Sim	Não
11	Outras.Especifique:	Sim	Não		Sim	Não
12	Não apresenta doença					

As próximas perguntas são sobre ALIMENTAÇÃO.

50- Em quantos dias da semana o(a) sr(a) costuma comer **feijão**?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca
- 6- nunca

51- Em quantos dias da semana, o(a) sr(a) costuma comer **pelo menos um tipo de verdura ou legume** (alface, tomate, couve, cenoura, chuchu, berinjela, abobrinha – **NÃO** vale batata, mandioca ou inhame)?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 56)
- 6- nunca (pule para 56)

52- Em quantos dias da semana, o(a) sr(a) costuma comer **salada de alface e tomate ou salada de qualquer outra verdura ou legume CRU**?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 54)
- 6- nunca (pule para 54)

53- Num dia comum, o(a) sr(a) come este tipo de **salada**:

- 1- no almoço (1 vez no dia)
- 2- no jantar ou
- 3- no almoço e no jantar (2 vezes no dia)

54- Em quantos dias da semana, o(a) sr(a) costuma comer **verdura ou legume COZIDO junto com a comida ou na sopa**, como por exemplo, couve, cenoura, chuchu, berinjela, abobrinha, sem contar batata, mandioca ou inhame?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 56)
- 6- nunca (pule para 56)

55- Num dia comum, o(a) sr(a) come **verdura ou legume cozido**:

- 1- no almoço (1 vez no dia)
- 2- no jantar ou
- 3- no almoço e no jantar (2 vezes no dia)

56- Em quantos dias da semana o (a) sr(a) costuma comer **carne vermelha** (boi, porco, cabrito)?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 58)
- 6- nunca (pule para 58)

57- Quando o(a) sr(a) come **carne vermelha com gordura**, o(a) sr(a) costuma:

- 1- tirar sempre o excesso de gordura
- 2- comer com a gordura
- 3- não come carne vermelha com muita gordura

58-Em quantos dias da semana o (a) sr(a) costuma comer frango/galinha?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 60)
- 6- nunca (pule para 60)

59-Quando o(a) sr(a) come frango/galinha com pele, o(a) sr(a) costuma:

- 1- tirar sempre a pele
- 2- comer com a pele
- 3- não come pedaços de frango com pele

60- Em quantos dias da semana o(a) sr(a) costuma tomar suco de frutas NATURAL?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 62)
- 6- nunca (pule para 62)

61-Num dia comum, quantos copos o(a) sr(a) toma de suco de frutas natural?

- 1- 1
- 2- 2
- 3- 3 ou mais

62- Em quantos dias da semana o(a) sr(a) costuma comer frutas?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 64)
- 6- nunca (pule para 64)

63-Num dia comum, quantas vezes o(a) sr(a) come frutas?

- 1- 1 vez no dia
- 2- 2 vezes no dia
- 3- 3 ou mais vezes no dia

64-Em quantos dias da semana o(a) sr(a) costuma tomar refrigerante ou suco artificial?

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 67)
- 6- nunca (pule para 67)

65-Que tipo?

- 1- Normal
- 2- diet/light/zero
- 3- ambos

66- Quantos copos/latinhas costuma tomar por dia?

- 1- 1
- 2- 2
- 3- 3
- 4- 4
- 5- 5
- 6- 6 ou +
- 7- não sabe

67- Em quantos dias da semana o(a) sr(a) costuma tomar leite? (não vale soja)

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca (pule para 69)
- 6- nunca (pule para 69)

68- Quando o sr(a) toma leite, que tipo de leite costuma tomar?

- 1- integral
- 2- desnatado ou semi-desnatado
- 3- os dois tipos
- 4- não sabe

69- Com que frequência o (a) sr (a) costuma tomar café da manhã fora de casa (não vale só cafezinho)

- 1- 1 a 2 dias por semana
- 2- 3 a 4 dias por semana
- 3- 5 a 6 dias por semana
- 4- todos os dias (inclusive sábado e domingo)
- 5- quase nunca
- 6- nunca

As próximas perguntas são sobre ANTROPOMETRIA.

AGORA, SE O SENHOR PERMITIR, EU VOU VERIFICAR A SUA PRESSÃO ARTERIAL, MEDIR A GLICEMIA (AÇÚCAR DO SANGUE), PESO, ALTURA, MEDIR SUA CINTURA E COLETAR CÉLULAS DA SUA BOCHECHA.

Entrevistador: siga a verificação dos itens abaixo conforme os protocolos.

70- Pressão arterial

PAS _____ mmHg PAD _____ mmHg

PAS _____ mmHg PAD _____ mmHg

PAS _____ mmHg PAD _____ mmHg

Média: PAS _____ mmHg PAD _____ mmHg

71- Glicemia: _____ mg/dL

O(a) Sr.(a) está a mais de 4 horas em jejum?

() Sim () Não

Se menos que 4 horas, determine o tempo _____ h.

72- Coleta de célula da mucosa bucal

() Sim () Não. Por que: _____

73- Índice de Massa Corporal: _____ Kg/m²

Você sabe seu peso (mesmo que seja valor aproximado)? _____ Kg () Não sabe () Não quis informar.

E sua altura? _____ cm. () Não sabe () Não quis informar.

Peso: _____ kg Altura: _____ m

Peso: _____ kg Altura: _____ m

Média: Peso: _____ kg Altura: _____ m

74- Circunferência da cintura: _____ cm
 Circunferência da cintura: _____ cm
 Circunferência da cintura: _____ cm
Média: Circunferência da cintura: _____ cm

75- Composição corporal (Byodynamics®):

% GC _____

Resistência: _____ ohms

Reactância: _____ ohms

76- GPS:

Latitude: _____ Longitude: _____

77- O(a) Sr.(a) usa **MEDICAMENTO(S) CONTÍNUO(S)**?

1- Sim. 2- Não.

78- Qual(is) é (são) a (s) medicação(es) de uso contínuo? Quantas **VEZES** utiliza ao dia? (Pedir a embalagem dos medicamentos para conferir e anotar a medicação).

Frequência/dia: _____ vez(es) _____

Dose: _____

As próximas perguntas são sobre **MEIO AMBIENTE**

GOSTARÍAMOS DE OBTER INFORMAÇÕES SOBRE A MANEIRA COMO VOCÊ PERCEBE OU PENSA SOBRE SEU BAIRRO. POR FAVOR, RESPONDA ÀS QUESTÕES DA MANEIRA MAIS CLARA POSSÍVEL ASSINALANDO APENAS UMA ALTERNATIVA PARA CADA QUESTÃO. NÃO HÁ RESPOSTAS CERTAS OU ERRADAS NESTE QUESTIONÁRIO. SUA IDENTIDADE SERÁ MANTIDA EM SIGILO.

A- IMEDIAÇÕES DA SUA CASA, RENDODEZA.

Dentre as residências do seu bairro.....

79- Quantas são compostas por apenas uma família na redondeza do seu bairro?

- 1- Nenhuma
- 2- Poucas
- 3- Algumas
- 4- A maioria
- 5- Todas

80- Quantas são compostas por sobrados ou lares com 1-3 andares na redondeza do seu bairro?

- 1- Nenhuma
- 2- Poucas
- 3- Algumas
- 4- A maioria
- 5- Todas

81- Quantas são compostas por apartamentos ou conjuntos habitacionais com 1-3 andares na redondeza do seu bairro?

- 1- Nenhuma
- 2- Poucas
- 3- Algumas
- 4- A maioria
- 5- Todas

82- Quantas são constituídas por apartamentos ou conjuntos habitacionais com 4-6 andares na redondeza do seu bairro?

- 1- Nenhuma
- 2- Poucas
- 3- Algumas
- 4- A maioria
- 5- Todas

83- Quantas são constituídas por apartamentos ou conjuntos habitacionais com 7-12 andares na redondeza do seu bairro?

- 1- Nenhuma
- 2- Poucas
- 3- Algumas
- 4- A maioria
- 5- Todas

84- Quantas são constituídas por apartamentos ou conjuntos habitacionais com mais de 13 andares na redondeza do seu bairro?

- 1- Nenhuma
- 2- Poucas
- 3- Algumas
- 4- A maioria
- 5- Todas

B- COMÉRCIO, LOJAS E OUTROS ESTABELECIMENTOS NO SEU BAIRRO.

85- Quanto tempo você leva para deslocar-se de sua casa ao comércio mais próximo se tiver que caminhar até lá? Por favor, responda apenas uma alternativa (X) para cada comércio ou estabelecimento.

Local	1-5 min	6-10 min	11-20 min	20-30 min	+31 min	Não sei	Não tem
Loja de conveniência\ mercadinho\ armazém							
Supermercado							
Loja de material de construção							
Feira\ feira livre							
Lavanderia							
Loja de roupas							
Correio							
Biblioteca							
Escola Fundamental							
Outras escolas							
Livraria							
Cafeteria\ bar							

Local	1-5 min	6-10 min	11-20 min	20-30 min	+31 min	Não sei	Não tem
Banco							
Restaurante							
Locadora de vídeo							
Farmácia\ drogaria							
Salão de beleza\ barbeiro							
Seu trabalho ou escola							
Ponto de ônibus							
Parque							
Área de lazer\ centro comunitário							
Academia de ginástica							
Se você não trabalha fora de casa ou não vai à escola assinale a alternativa ----->							

C- ACESSO A SERVIÇOS

Por favor, circule a alternativa que melhor se aplica a você ou a seu bairro. As palavras local e caminhada querem dizer ficar a 10-15 minutos caminhando de sua residência.

86- Eu consigo fazer a maioria das compras no comércio local.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

87- As lojas estão a uma curta distância de caminhada de minha casa.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

88- Estacionar é difícil na área do comércio local.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

89- Existem vários locais em que posso facilmente ir caminhando da minha casa.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

90- É fácil caminhar da minha casa até um ponto de ônibus (trem, metrô)

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

91- As ruas do meu bairro são inclinadas, fazendo que seja difícil caminhar nelas.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

92- Há muitos morros\depressões\paredões no meu bairro, limitando o número de rotas\percursos para o deslocamento de um lugar a outro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

D- RUAS DO MEU BAIRRO.

Por favor, circule a alternativa que melhor se aplica a você e ao seu bairro.

93- No meu bairro não existem ruas sem-saída ou são raras.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

94- No meu bairro existem caminhos que conectam as ruas sem-saídas com outras ruas, trilhas ou outras ruas sem-saída.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

95- As distâncias entre os cruzamentos do meu bairro são geralmente curtas (menos de 100metros)

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

96- Existem vários caminhos alternativos que eu posso fazer para ir de um lugar para outro no meu bairro (não tenho que ir sempre pelo mesmo caminho).

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

E- LUGARES PARA CAMINHAR E ANDAR DE BICICLETA

Por favor, circule a alternativa que melhor se aplica a você e ao seu bairro.

97- Existem calçadas na maioria das ruas do meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

98- As calçadas do meu bairro são bem cuidadas (pavimentadas, lisas e sem muitos buracos).

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

99- Existem ciclovias ou vias/trilhas para pedestres próximas ou no meu bairro que são de fácil acesso.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

100- As calçadas do meu bairro são separadas das ruas/avenidas por locais para estacionar carros.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

101- As calçadas do meu bairro são separadas das ruas por faixas sem pavimento

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

F- ARREDORES DO BAIRRO

Por favor, circule a alternativa que melhor se aplica a você e seu bairro.

102- Existem árvores ao longo das ruas do meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

103- As árvores fazem sombra nas calçadas do meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

104- Enquanto se caminha no meu bairro existem várias coisas interessantes para se olhar.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

105- No meu bairro geralmente não se encontra lixo.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

106- Existem várias construções/casas atrativas no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

G- SEGURANÇA NO TRÂNSITO

Por favor, circule a alternativa que melhor se aplica a você e ao seu bairro.

107- Existe tanto tráfego ao longo da rua onde vivo, que fica difícil ou desagradável caminhar no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

108- Existe tanto tráfego ao longo das ruas próximas onde vivo, que fica difícil ou desagradável caminhar no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

109- A velocidade do tráfego na rua onde moro é geralmente baixa (30Km/h ou menos).

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

110- A maioria dos motoristas ultrapassa o limite de velocidade enquanto trafega no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

111- Existem faixas, sinais ou passarelas que auxiliam os pedestres a atravessar as ruas movimentadas do meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

112- As faixas para pedestre fazem com que as pessoas sintam-se seguras ao atravessar as ruas movimentadas do bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

113- Quando caminho no meu bairro, existe muita fumaça (por exemplo: carros e ônibus).

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

H- SEGURANÇA CONTRA CRIMES

Por favor, circule a alternativa que melhor aplica-se a você e ao seu bairro.

114- As ruas do meu bairro são bem iluminadas à noite.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

115- Pedestres e ciclistas que utilizam as ruas do meu bairro são facilmente visualizados pelos moradores, de dentro de suas casas.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

116- Quando caminho no meu bairro, vejo e converso com outras pessoas.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

117- Existe um alto índice de criminalidade no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

118- A criminalidade faz com que não seja seguro caminhar durante o dia no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

119- A criminalidade faz com que não seja seguro caminhar à noite no meu bairro.

- 1- Discordo fortemente
- 2- Discordo em parte
- 3- Concordo em parte
- 4- Concordo fortemente

I- NÍVEL DE SATISFAÇÃO COM O BAIRRO

Abaixo estão listados alguns itens do seu bairro que você pode achar ou não satisfatórios. Utilizando a escala de 1-5, indique o nível de satisfação sobre cada item colocando o número no início de cada questão. Por favor, responda da maneira mais clara e honesta possível. A escala de pontos está composta da seguinte forma:

- 1- insatisfação total ou completa insatisfação
- 2- alguma insatisfação
- 3- nem satisfeito, nem insatisfeito
- 4- alguma satisfação
- 5- satisfação total ou completa satisfação
- 6- não se aplica (não sei/não faz essa atividade)

120- Considerando o seu bairro, qual é a sua satisfação quanto ao(a):

Exemplo: 3 número de faixas de pedestres no seu bairro?

- a. acesso a vias expressas/rodovias da sua casa?
- b. acesso ao transporte público no seu bairro?
- c. tempo de transporte entre casa- trabalho/casa-escola?
- d. acesso ao comércio no seu bairro?
- e. número de amigos que você tem no seu bairro?
- f. número de pessoas que você conhece no seu bairro?
- g. facilidade e prazer em andar a pé nele?
- h. facilidade e prazer em andar de bicicleta na rua?
- i. qualidade das escolas no seu bairro?
- j. acesso à diversão no seu bairro (restaurantes, cinema, clubes, etc) ?
- k. segurança quanto à ameaça da criminalidade no seu bairro?
- l. quantidade e velocidade do tráfego no seu bairro?
- m. barulho do tráfego no seu bairro?
- n. quantidade e a qualidade dos mercados\ supermercados do seu bairro?
- o. quantidade e qualidade dos restaurantes do seu bairro?
- p. ser um bom lugar para criar crianças\filhos?
- q. ser um bom lugar para se viver?

Sr(a) XXX Agradecemos pela sua colaboração.

ANEXO F - Artigo 1 - Publicado na *Annals of Human Genetics*Annals of
human genetics

doi: 10.1111/ahg.12047

Heritability of Phenotypes Associated with Glucose Homeostasis and Adiposity in a Rural Area of BrazilGeórgia G. Pena¹, Míriam Santos Dutra^{2,3}, Andrea Gazzinelli¹, Rodrigo Corrêa-Oliveira³ and Gustavo Velasquez-Melendez^{1*}¹Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública, Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem, Avenida Alfredo Balena 190, Belo Horizonte, MG 30130-100, Brazil²Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Rua Augusto de Lima, 1715, Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP 30190-002, Brazil³Laboratório de Imunologia Celular e Molecular, Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ, Augusto de Lima 1715, Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP 30190-002, Brazil**Summary**

We aimed to estimate the heritability and genetic correlation between glucose homeostasis and adiposity traits in a population in a rural community in Brazil. The Jequitinhonha Community Family Study cohort consists of subjects aged ≥ 18 years residing in rural areas in Brazil. The data on the following traits were assembled for 280 individuals (51.7% women): body mass index (BMI), body fat percentage, waist and mid-upper arm circumferences, triceps skinfold, conicity index, insulin, glucose, high-density lipoprotein cholesterol (HDLc), triglycerides and C-reactive protein. Extended pedigrees were constructed up to the third generation of individuals using the data management software PEDSYS. The heritability and genetic correlations were estimated using a variance component method. The age- and sex-adjusted heritability values estimated for insulin ($h^2 = 52\%$), glucose ($h^2 = 51\%$), HDLc ($h^2 = 58\%$), and waist circumference (WC; $h^2 = 49\%$) were high. Significantly adjusted genetic correlations were observed between insulin paired with each of the following phenotypes; (BMI; $\rho_G = 0.48$), WC ($\rho_G = 0.47$) and HDLc ($\rho_G = -0.47$). The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was genetically correlated with BMI ($\rho_G = 0.53$) and HDLc ($\rho_G = -0.58$). The adjusted genetic correlations between traits were consistently higher compared with the environmental correlations. In conclusion, glucose metabolism and adiposity traits are highly heritable and share common genetic effects with body adiposity traits.

Keywords: Genetics, heritability, variance components, obesity, adiposity, glucose, insulin

Introduction

Insulin resistance, type 2 diabetes and obesity are major determinants of cardiovascular disease, mortality and other complications (Reaven, 1997; Godsland et al., 2011; Bo et al., 2012; Cameron et al., 2013). Diabetes is considered as an accelerating factor (Wagenknecht et al., 2003; Godsland et al., 2011).

In addition, environmental factors, such as sedentary lifestyle and high-energy diet, also contribute to the development of diabetes (Healy et al., 2008; He et al., 2012; Bhopal, 2013). Controversy exists regarding the temporal sequence of the components of the pathophysiology of type 2 diabetes, as these processes apparently begin with a reduced response to insulin, called insulin resistance (Godsland et al., 2011).

Studies have indicated that alterations in glucose metabolism might reflect chronic inflammation associated with the expansion of adipose tissue (Bastard et al., 2006). In general, increasing the metabolic activity and expansion of adipose tissue increases the production of free fatty acids and inflammatory factors (Greenberg & Obin, 2006). Thus, being overweight might lead to a loss of homeostatic control

*Corresponding author: GUSTAVO VELASQUEZ-MELENDZ, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem-Avenida Alfredo Balena, 190-Belo Horizonte, 30130-100, Brazil. Tel: +55 31 3409 9868; Fax +55 31 3409 9830; E-mail: guveme@ufmg.br

or the formation of part of a cluster of other metabolic states, such as insulin resistance, hypertension, chronic inflammation and a pre-thrombotic state, which contribute to the acceleration of the development of atherosclerosis (Schmidt et al., 1996). Epidemiological studies have shown wide controversy associated with evidence that the components of metabolic syndrome simultaneously occur more often than expected (Schmidt et al., 1996).

This effect could reflect the fact that these factors could act together as important genetic determinants or these factors might be dependent on different environmental factors. Indeed, a number of studies have identified a genetic influence on phenotypes associated with metabolic disorders that include multiple measures of adiposity (Rice et al., 1999), hyperinsulinemia and insulin resistance (Mayer et al., 1996). These results are consistent in population studies of twins and large family pedigrees, showing moderate and high heritability of various traits associated with anthropometric, inflammatory, serum lipids and glucose levels (Souren et al., 2007; Sung et al., 2009; Valle et al., 2011; Rao et al., 2012).

The assessment of the heritability of anthropometric and biochemical phenotypes could provide the basis for analysis and more evidence for the linkage detection of metabolic pathways involved in the development of these chronic diseases. However, many aspects of the genetic contribution to these diseases remain elusive, particularly in admixed populations, such as Brazilians (Parra et al., 2003; Pimenta et al., 2006). In addition, which and how many specific genes are involved in these diseases and whether the genetic contribution has a minor or major effect, showing the pleiotropic effects of these genes, remains unknown (Pimenta et al., 2006). These issues have been poorly investigated in Brazilian populations, particularly in rural areas where the populations are reasonably homogeneous, environmental variation might be reduced and a relatively uniform genetic background of the population exists (Heutink & Oostra, 2002), providing an attractive setting for the study of the heritability of complex quantitative traits (Velasquez-Melendez et al., 2007; Oliveira et al., 2008). Notably, in this study area, the influence of Caucasian individuals on the population is not clearly evident, with most of the individuals being native Brazilians and African descendants. Importantly, living in isolated areas presents clear familial intermarriage, increasing the potential inbreeding of the population. Moreover, Brazil is a country where a new phenomenon of rapid nutritional transitioning occurs, while other coexisting conditions, such as undernutrition, obesity and a high prevalence of metabolic syndrome, becomes more prevalent in urban and rural areas (Velasquez-Melendez et al., 2007; Aballay et al., 2013).

In emerging economies, although the rate of undernutrition has gradually been decreasing, obesity rates are increasing, and in poor populations, these extreme conditions coexist in

low and middle-income countries, where gradual changes in the economy are accompanied by rapid changes in the epidemiology of different diseases.

The aim of the present study was to estimate the heritability of the phenotypes associated with insulin resistance (glucose, fasting insulin and homeostasis model assessment of insulin resistance—HOMA-IR), adiposity anthropometric measures (body mass index—BMI, waist circumference—WC and mid-upper arm circumference—MUAC), lipids levels (triglycerides and HDLc) and C-reactive protein (CRP) as an inflammatory marker. In addition, we estimated the environmental and genetic correlations using adjusted models to verify evidence of pleiotropic hypotheses between these traits. This study was developed in an underdeveloped area, where governmental social programs have yet to show any effect on health quality and care.

Materials and Methods

Study Area and Design

A cross-sectional population-based study was conducted in 2004 in the village of Virgem das Graças, a rural area in the municipality of Ponto dos Volantes, and this community is located in a semiarid region of Jequitinhonha Valley, Minas Gerais State, Brazil. The sample was obtained from the village of Taboca and four widely dispersed hamlets, Cardoso 1, Cardoso 2, Cardoso 3 and Suçuarana, which are located along two streams between 1 and 5 km from the main village of Taboca. Suçuarana is the remotest location at the highest elevation. Suçuarana has no direct access and can only be reached on foot or horseback. These rural villages and hamlets have no water treatment or sewage systems.

Pedigree Data Collection

All of the individuals living in the rural area were indiscriminately invited to participate in this study and a census was obtained of the population living in Virgem das Graças, which included 685 inhabitants. Of this total, 408 were aged greater than or equal 18 years, providing a base population for this study. Some inhabitants were excluded: pregnant women ($n = 7$), individuals who did not give blood ($n = 35$), people in the study who were traveling ($n = 44$), those who had migrated to other areas ($n = 11$) and those who would not participate in the study ($n = 31$). A total of 280 eligible subjects were available to participate in this study. For the family data, in this same visit, each household was assigned a unique household number, and each resident was assigned a personal identity number (PIN). Information for the pedigree data were collected as previously described (Williams-Blangero &

G. G. Pena et al.

Blangero, 2006). Briefly, pedigrees were constructed using the information gathered during interviews of each household. The birth date and place, gender, and the names of parents, siblings, and first- or second-degree relatives living in the village of each participant were registered for each home. If not previously registered, a PIN was assigned for each new parent, grandparent or sibling cited in the interviews. This information was used for the construction of multi-household extended pedigrees using the pedigree-based data management system—PEDSYS (Dyke, 1992). Two programs were used within PEDSYS: COUNTPED to identify the genealogical links in the file and to assign a number to each individual, corresponding to the pedigree to which he or she belongs; and PEDTRIM to simplify the pedigree through the removal of individuals who do not add information to the analysis.

The consent form and the protocols were approved through the National Ethics Committee of Brazil and the Ethics Committee from the Universidade Federal de Minas Gerais. Consent forms, written in Portuguese, were provided to each participant, who was provided adequate time to read the information and ask questions. Consent was obtained from each participant and documented with a signature on the consent form. All patients provided written informed consent prior to inclusion in this study, and all procedures were performed in person, in accordance with National, Institutional and NIH Guidelines.

Pedigree Data Confirmation

To confirm the genealogical links obtained at the interviews, the genotyping of 10 highly informative microsatellite markers was performed in all DNA samples (Table 1). Eight of the markers were purchased from ABI—Applied Biosystems™ (Carlsbad, CA, USA) as part of a Linkage Mapping Set (LMS) v2.5, and two markers were custom made. To design these markers, the DNA samples were extracted from blood clots obtained from the population for which pedigree information was available (Dutra et al., 2013). Polymerase chain reactions (PCRs) were performed in a total of 5 μ L, containing 12.5 ng DNA template, 2.2 μ L of standard buffer pre-mix, 2.5 pmol of primers and 0.25 units of AmpliTaq Gold™ polymerase (Applied Biosystems®, Foster City, CA, USA). The standard buffer premix contained 2.3X PCR Buffer II (Applied Biosystems®), 6.9 mM MgCl₂, 0.58 mM dNTPs (Bioline®, Taunton, MA, USA) and 1 M Betaine (Sigma-Aldrich®, Saint Louis, MO, USA). The PCRs were performed using the following program: 94°C for 10 min, followed by 15 cycles of 94°C for 20 s, 63–56°C for 60 s, with 0.5°C/cycle decrements, and 72°C for 60 s, 20 cycles of 94°C for 20 s, 56°C for 60 s, and 72°C for 60 s and a final extension step at 72°C for 5 min. Subsequently, the PCR products

were denatured for 5 min at 95°C. The fragment analysis was performed with MegaBace/1000 (GE Healthcare®, Buckinghamshire, UK) using the MegaBace ET550-R (GE Healthcare®) as genotyping size standards. The size of the labeled fragments was determined using Fragment Profiler software (GE Healthcare®). Eventual typing errors and genotype and complex family structure incompatibilities were identified and corrected using Pedcheck software (O'Connell & Weeks, 1998, Shugart & Wang, 2012). Heterozygosity and the polymorphic information content (PIC) were calculated using the free online software PICcalc (Nagy et al., 2012).

Anthropometric Traits

Trained interviewers collected the anthropometric data according to a standard protocol (Lohman et al., 1988). Weight was measured to the nearest 0.1 kg using a calibrated scale, and height was determined to the nearest 1 mm using a wall-mounted stadiometer. The measures were obtained from individuals wearing light clothes without shoes. The circumferences were measured using inelastic plastic fiber tape placed directly on the skin with both feet and arms hanging freely. The measurements were obtained at the end of expiration at the midpoint between the lowest rib margin and the iliac crest. The MUAC was measured at the midpoint to the nearest 1 mm at the midpoint between the acromial and olecranon, and the triceps skinfold (SKT) was measured to the nearest 1 mm using a Lange® (Beta Technology Incorporated, Cambridge, MD, USA) skinfold caliper. These measurements were repeated three times. The BMI was obtained after dividing the weight in kilograms by the square of the height in meters ($BMI = \text{weight}/\text{height}^2$, kg/m²). The tetrapolar frequency bioelectrical impedance (model Quantum II, RJL® Systems, Inc., Detroit, MI, USA) was used to measure the whole-body electrical resistance and impedance with the participant lying flat in the horizontal position. Estimates of the total body fat (BF) and percent BF (%BF) were calculated using CYPRUS 1.2 software (RJL® Systems, Detroit, MI, USA).

Biochemical Analyses

The fasting blood samples were collected in Vacutainer® (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, USA) tubes at central examination sites in the sampled villages and hamlets. The blood samples were immediately placed on wet ice and transported to the laboratory of the René Rachou Research Center of the Fundação Oswaldo Cruz, in Belo Horizonte, where the samples were processed and stored until further use. The diagnosis of insulin resistance was estimated using the Homeostasis Model Assessment (HOMA-IR), a reliable indicator of insulin resistance, obtained using a formula that considers the

fasting insulin ($\mu\text{U/mL}$) and fasting glucose ($\text{mmol/L}/22.5$ levels (Matthews et al., 1985). Low HOMA-IR values indicate high insulin sensitivity, whereas high HOMA-IR values indicate insulin resistance.

Total cholesterol, HDLc and triglycerides were measured using commercially available enzymatic reagents adapted to an auto analyzer (Cobas-Miraplus, Roche[®] Crumlin, UK). The concentration of HDLc was also determined using a colorimetric enzymatic assay based on the precipitation of low-density lipoprotein cholesterol (LDLc) and very LDLc fractions using phosphotungstic acid and magnesium chloride.

Statistical Methods

The genealogical data were entered into a PEDSYS, which facilitated rapid pedigree reconstruction and the determination of pedigree sizes (Dyke, 1992). The phenotypes studied included glucose homeostasis and adiposity traits. The basic descriptive statistics, including means and standard deviations, were estimated using the STATA statistical software, version 12.0. The heritability ($h^2 \pm$ standard error) for each phenotype was defined based on a standard quantitative genetic theory, which defines heritability as the proportion of the total phenotypic variance due to additive genetic effects. The heritability was calculated as the ratio of additive genetic variance to total phenotypic variance ($\sigma^2_{\text{genetic}}/\sigma^2_{\text{phenotype}}$). When the normality assumption did not hold for a specific trait, natural log-transformation was applied, followed by a new data assessment (Hopper & Mathews, 1983; Lange & Boehnke, 1983). The residual heritability was used to reflect the proportion of variance attributable to additive genetic effects after considering covariate traits, such as sex and age.

The relationships between log transformed measures of glucose metabolism and adiposity traits were estimated based on pair-wise genetic and environmental correlations. The phenotypic correlation (ρ_g) between traits can be partitioned into additive genetic ($\rho_g \pm$ standard error) and random environmental ($\rho_e \pm$ standard error) components. In addition, complete and incomplete pleiotropy were assessed (Almasy et al., 1997). Complete pleiotropy was indicated with a ρ_g equal to one (the ρ_g was not significantly different from 1). When the ρ_g is significantly different from ± 1.0 and significantly different from zero, the pleiotropy is interpreted as incomplete. The significance of all parameters was calculated using a likelihood ratio test based on the statistic $-2(\ln(L_r) - \ln(L_c))$, which compares the likelihood of a restricted model (L_r) to the likelihood of a complete model (L_c) in which the parameter (h^2 , c^2 , ρ_e or ρ_g) is set to zero. The likelihood ratio test statistic is asymptotically distributed as a χ^2 distribution with the number of degrees of freedom equal to the number of parameters fixed in the restricted model. All variables

were considered significant at $p \leq 0.05$. The analyses were implemented in the Sequential Oligogenic Linkage Analysis Routine (SOLAR; Texas, USA) software package (Almasy & Blangero, 1998).

Results

Characteristics of Participants and Pedigree Descriptive Analyses

Family relationship links were established between individuals in the data set based on detailed family information collected during the fieldwork. After confirmation of this information through the genotyping of informative microsatellite markers (Table 1), relative pairs in the whole and subset family population are shown in Table 2. The extensive in-depth pedigree information facilitated the reconstruction of a single pedigree, containing a total of 1464 individuals and 280 sampled individuals (136 men and 144 women). We defined a total of 544 nuclear families and 485 founders from the pedigree data (data not shown). The sampled pedigree contained 4009 pairs of relatives, including 149 parent-offspring, 114 siblings, 10 grandparent-grandchild, 172 avuncular, 2 half-sibling and 317 first cousin pairs, which were informative for genetic analysis.

Descriptive statistics, including means and standard deviations for anthropometric and biochemical traits (Table 3), were obtained from 280 subjects ranging in age from 18 to 85 years (44.56 ± 17.29). As shown, BMI, BF, MUAC, SKT, fasting insulin and total cholesterol were higher in female than in male individuals.

Estimates of the variance components from the quantitative genetic analysis, based on maximum-likelihood tests, are shown in Table 4. The heritability ($h^2 \pm$ standard error) estimates were adjusted for different co-variables. Considering the anthropometric traits, the heritability estimates were high in all models. The crude heritability estimates ranged from 18 to 52%. The HDLc ($h^2 = 0.52 \pm 0.12$, $p < 0.001$), WC ($h^2 = 0.50 \pm 0.11$, $p < 0.001$) and insulin ($h^2 = 0.50 \pm 0.13$, $p < 0.001$) showed higher values. When the heritabilities were adjusted for age, sex and smoking habits, higher estimates remained for WC ($h^2 = 0.49 \pm 0.11$, $p < 0.001$), BMI ($h^2 = 0.47 \pm 0.11$, $p < 0.001$), and body fat (BF%; $h^2 = 0.42 \pm 0.11$, $p < 0.001$). The biochemical traits were adjusted for age, sex, smoking habits and WC. Estimates were obtained for HOMA-IR ($h^2 = 0.28 \pm 0.13$, $p = 0.005$), CRP ($h^2 = 0.20 \pm 0.13$, $p = 0.04$), glucose ($h^2 = 0.51 \pm 0.14$, $p < 0.001$), fasting insulin ($h^2 = 0.52 \pm 0.14$, $p < 0.001$) and HDLc ($h^2 = 0.58 \pm 0.12$, $p < 0.001$).

Because genetic and environmental factors cooperatively contribute to the development of insulin resistance, which

G. G. Pena et al.

Table 1 Information for the microsatellite markers used for genotyping.

Microsatellite	LMS v2.5 Panel	Dye	Product range (bp)	Het _{obs}	PIC ^a	N ^o of alleles
Myc10_10	Custom made	FAM TM	100–120	0.84	0.83	10
D11S4102	62	FAM TM	140–172	0.74	0.72	16
Myc10_7	Custom made	FAM TM	190–210	0.85	0.84	7
D11S4151	15	FAM TM	331–345	0.82	0.80	7
D11S4191	15	VIC TM	89–119	0.78	0.74	15
D6S289	8	VIC TM	160–182	0.88	0.87	11
D2S117	3	VIC TM	190–220	0.88	0.88	15
D11S914	62	VIC TM	279–291	0.78	0.74	6
D2S2382	4	VIC TM	296–336	0.81	0.79	20
D2S325	3	NED TM	154–184	0.83	0.81	15

^aPIC: Polymorphism Informative Content.**Table 2** Relative pairs in the whole and subset family population.

Relative pairs	Whole (n) pedigree	Phenotype subset (n)
Pedigree/pedigree members	21/1464	280
Parent–offspring	1735	149
Siblings—siblings	799	114
Grandparents—grandchild	2462	10
Avuncular	1690	172
Half-siblings	38	2
1st Cousins	1802	317
Total relationships	43,340	4009

leads to diabetes, pair-wise relationships were used to estimate the genetic correlations of glucose homeostasis traits (glucose, fasting insulin and HOMA-IR) with anthropometric (BMI, WC and MUAC) and lipid traits (HDLc, triglycerides). The genetic (ρ_g) and environmental correlation (ρ_e) estimates were adjusted for sex and age as shown in Table 5. A significant positive correlation of fasting insulin with BMI ($\rho_g = 0.48 \pm 0.16$) and WC ($\rho_g = 0.47 \pm 0.16$) was observed in both unadjusted (data not shown) and adjusted models, and these values were negatively correlated with HDLc only in the adjusted model ($\rho_g = -0.47 \pm 0.18$). HOMA-IR was negatively correlated with HDLc in both models ($\rho_g = -0.58 \pm 0.21$) and positively correlated with BMI only in the adjusted model. There were no significant correlations between fasting glucose and either anthropometric or biochemical traits in the adjusted analysis. Based on the likelihood-ratio test, there was no evidence of complete pleiotropy ($\rho_g = \pm 1$) in any of the significant correlations. The proportions of total additive genetic variance due to the shared genes varied between 21% (HOMA-IR–HDLc) and 44% (fasting insulin–BMI).

There were significant environmentally adjusted correlations between the following traits: fasting glucose–WC ($\rho_e =$

0.30 ± 0.14 , $p = 0.04$), fasting insulin–BMI ($\rho_e = 0.33 \pm 0.14$, $p = 0.04$), fasting insulin–MUAC ($\rho_e = 0.33 \pm 0.12$, $p = 0.02$), fasting insulin–HDLc and HOMA-IR–MUAC ($\rho_e = 0.29 \pm 0.11$, $p = 0.03$).

Discussion

In this study, we estimated the heritability of the phenotypes associated with glucose homeostasis, adiposity and lipids using a variance components method in a large pedigree data set. These estimates explain the percent trait variance resulting from additive genetic effects. Highly significant genetic heritability (h^2) for glucose and fasting insulin traits was observed, even in traits adjusted according to sex, age and waist circumference. However, these estimates were attenuated for HOMA-IR. The heritability estimates for glucose homeostasis traits ranged between 20% and 58%. Similar to another study conducted in a rural area of Brazil, polygenic heritability estimates, adjusted for covariates, are high for waist circumference and BMI but relatively different for glucose metabolism traits (Oliveira et al., 2008).

The results of the present study are consistent with other studies performed in different sets of populations in different geographical regions worldwide (Austin et al., 1993; Arya et al., 2002; Xiang et al., 2002; Lin et al., 2005; Bastarrachea et al., 2007; Shah et al., 2009; Zabaneh et al., 2009; Ghosh et al., 2010; Lee et al., 2010; Valle et al., 2011). However, these results are the first demonstration that phenotypes are associated with glucose metabolism and obesity in a Brazilian population, using large pedigree data from individuals in rural areas.

Low estimates of heritability for fasting insulin (8%) and HOMA-IR (8%) and moderate estimates for glucose (28%) have been observed in African-descendants and Spanish populations (Henkin et al., 2003). In addition, in healthy families of Caucasian, moderate heritability estimates (between 20%

Table 3 Clinical characteristics of individuals according to sex.

Variables	Sex												
	Male				Female				Total				p value ^a
	N	Frequency or Average	±	SD	N	Frequency or Average	±	SD	N	Frequency or Average	±	SD	
Age (years)	135	44.69	±	16.96	145	44.44	±	17.65	280	44.56	±	17.29	
Skin Color													
White	48	35.56			87	44.83			113	40.36			0.11
Nonwhite	65	64.44			80	55.17			167	59.64			
Marital Status													
Single	29	21.48			21	14.48			50	17.86			0.005
Married/Living with a partner	102	75.56			105	72.41			207	73.93			
Separated/Divorced/Widowed	4	2.96			19	13.10			23	8.21			
Smoking Status													<0.001
Current Smoker	48	35.56			17	11.72			65	23.21			
Ex-smoker	50	37.04			116	80.00			166	59.29			
Nonsmoker	37	27.41			12	8.28			49	17.50			
BMI Status													<0.001
Normal	118	87.41			91	62.76			209	74.64			
Overweight	15	11.11			38	26.21			53	18.93			
Obese	2	1.48			16	11.03			18	6.43			
BMI (kg/m ²)	136	21.98	±	2.91	144	24.21	±	4.26	280	23.13	±	3.82	<0.001
Body Fat (%)	136	13.45	±	4.41	144	33.64	±	7.81	280	23.83	±	11.96	<0.001
Body Fat (kg)	136	8.45	±	3.94	144	19.39	±	7.649	280	14.08	±	8.21	<0.001
MUAC (cm)	136	27.51	±	2.60	144	28.63	±	3.50	280	28.09	±	3.14	0.003
Triceps Skinfold (mm)	136	8.37	±	3.676	144	18.33	±	5.56	280	13.49	±	6.87	<0.001
Conicity Index	135	1.22	±	0.07	144	1.22	±	0.08	279	1.22	±	0.78	0.66
WC (cm)	136	80.45	±	8.51	144	81.29	±	10.99	280	80.93	±	9.86	0.52
HOMA-IR	105	0.87	±	1.23	126	1.12	±	0.87	231	1.01	±	1.05	0.07
Glucose (mg/dL)	126	90.53	±	22.65	138	90.32	±	18.21	264	90.42	±	20.41	0.93
Fasting Insulin (μU/mL)	107	3.76	±	4.39	126	5.00	±	3.61	233	4.43	±	4.03	0.01
CRP	114	0.35	±	0.70	127	0.38	±	0.51	241	0.37	±	0.61	0.72
HDL (mg/dL)	126	49.75	±	13.12	138	51.19	±	14.46	264	50.50	±	13.83	0.39
Cholesterol (mg/dL)	126	193.58	±	41.59	138	207.04	±	51.86	264	200.62	±	47.63	0.02
Triglycerides (mg/dL)	126	107.17	±	54.15	138	121.66	±	67.23	264	114.75	±	61.66	0.05

^at-test or chi-squared test, between sex. SD: standard deviation; BMI: body mass index; MUAC: mid-upper arm circumference; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; CRP: C-reactive protein; HDL: high-density lipoprotein; WC: waist circumference. H: height.

and 23%) were also observed, when analyzing fasting glucose, insulin and insulin resistance (Freeman et al., 2002). However, in highly consanguineous healthy Omani Arab (Bayoumi et al., 2007) and European families with increased susceptibility to type 2 diabetes, high estimates of genetic contribution for insulin resistance (37%) and fasting glucose (72%) were reported (Mills et al., 2004). Moreover, in Asian Indian families, moderate and high heritability, similar to the present study, were observed for HOMA-IR (22%), glucose (37%), and HDLc (53%) (Zabaneh et al., 2009). Other study designs have shown evidence of glucose homeostasis and high level

lipid concentrations (Laws et al., 1989), the significant heritability of insulin in twins (53%) (Mayer et al., 1996) and increased insulin concentrations in the nondiabetic offspring of diabetic parents (Haffner et al., 1988).

We also observed consistent positive correlations with glucose metabolism traits, such as fasting insulin and HOMA-IR, and adiposity indices and negative correlations with HDLc. All correlations remained significant after adjusting for potentially confounding variables. However, we observed no association between fasting glucose and either adiposity or lipid traits. These correlations were not extended to the novel

G. G. Pena et al.

Table 4 Heritability of glucose homeostasis and adiposity traits adjusted according to models adjusted for different variables.

Phenotype	N	Crude heritability		Adjusted heritability		
		$h^2 \pm SE$	p-value	N	$h^2 \pm SE$	p-value
BMI (kg/m ²)	279	0.47 ± 0.11	<0.001	279	0.47 ± 0.11	<0.001 ¹
Body fat (%)	279	0.44 ± 0.12	<0.001	279	0.42 ± 0.11	<0.001 ¹
WC (cm)	278	0.50 ± 0.11	<0.001	278	0.49 ± 0.11	<0.001 ¹
MUAC (cm)	279	0.30 ± 0.10	<0.001	279	0.31 ± 0.10	<0.001 ¹
SKT (mm)	279	0.24 ± 0.11	0.003	278	0.23 ± 0.11	0.004 ¹
Conicity index	278	0.32 ± 0.13	0.002	278	0.30 ± 0.13	0.002 ¹
HOMA-IR	230	0.35 ± 0.14	0.002	229	0.28 ± 0.13	0.005 ²
Glucose (mg/dL)	263	0.38 ± 0.14	0.001	262	0.51 ± 0.14	<0.001 ²
Fasting Insulin (μU/mL)	232	0.50 ± 0.13	<0.001	231	0.52 ± 0.14	<0.001 ²
CRP	240	0.18 ± 0.12	0.03	239	0.20 ± 0.13	0.04 ²
HDL (mg/dL)	263	0.52 ± 0.12	<0.001	262	0.58 ± 0.12	<0.001 ²
Cholesterol (mg/dL)	263	0.41 ± 0.12	0.002	262	0.42 ± 0.12	<0.001 ²
Triglycerides (mg/dL)	263	0.41 ± 0.14	<0.001	262	0.38 ± 0.14	<0.001 ²

All measures were log_e transformed prior to analysis. h^2 = heritability. SE: standard error; BMI: body mass index; MUAC: mid-upper arm circumference; HOMA-IR: homeostasis model assessment-insulin resistance; CRP: C-reactive protein; HDL: high-density lipoprotein; WC: waist circumference. SKT: triceps skinfold.

¹Adjusted by sex and age and smoking habits.

²Adjusted by sex, age and WC.

risk factors associated with inflammation, such as CRP. We observed that all correlations between these studied traits were higher when compared with the environmental correlations.

Our results are consistent with a number of studies that have investigated the relationship between insulin resistance phenotypes, adiposity, dyslipidemia and hypertension (Brown et al., 2003; Oliveira et al., 2008; Warren et al., 2005; Reilly & Rader, 2003). Highly significant positive correlations were also observed between fasting insulin or HOMA-IR and adiposity indices in other studies (Mills et al., 2004; Sung et al., 2009). It has been suggested that the genes influencing insulin resistance and glucose metabolism might exhibit pleiotropic effects with genes that regulate central and global adiposity and the levels of HDLc in the body, suggesting that the genes underlying an increase in global and central adiposity might also influence insulin resistance.

The magnitudes of genetic correlations between anthropometric and biochemical traits might suggest the existence of pleiotropic effects of genetic factors. In general, our results of bivariate correlations imply that the same set of genes or additive genes contribute to the increase in fasting insulin, insulin resistance, and adiposity and the decrease in HDLc. The significant additive genetic correlations showed p values different from zero and one, confirming incomplete pleiotropy.

Similar to other studies of heritability, the present study has limitations. The heritability estimates reflect the ratio of genetic and total variance and can therefore be influenced

through population variance and structure, and disease and treatment effects. In this study, we observed that many genes contribute to the variability of each phenotype, potentially involving different metabolic pathways.

The results presented in this study are unique, as these observations were obtained from a rural population subjected to nutritional and epidemiological transitions. In this area, the prevalence of physically active adults is high, as the primary activity of the active population is farming, suggesting that the working members spend more energy in their daily routines. However, the levels of leisure time spent performing physical activities are low and follow patterns similar to those observed in urban areas (Bicalho et al., 2010). These observations are in contrast with those from sedentary populations, which have been assessed in other studies showing a potentially high risk for developing chronic diseases (Matos & Ladeia, 2003).

Moreover, all significant correlations between these traits showed incomplete pleiotropy. Pleiotropy is typically implied when a gene(s) controls multiple phenotypic traits. There might be a mediation of the effects of a gene for one trait onto another or even the confounding of effects by a third gene.

In conclusion, the results of univariate and bivariate quantitative genetic analyses reinforce the hypothesis that a common set of genes has at least partial pleiotropic effects on both insulin levels and insulin resistance associated with adiposity and the levels of HDLc in the body. These results confirm this

Table 5 Pair-wise correlation adjusted between glucose homeostasis with anthropometrics and lipid traits.

Phenotype pairs	N	$\rho_g \pm SE$	p value ¹	$\rho_e \pm SE$ ²	ρ_p ³
Glucose–BMI	280	0.05 ± 0.22	0.79	0.22 ± 0.13	0.15
Glucose–WC	280	−0.12 ± 0.22	0.57	0.30 ± 0.14 ²	0.18
Glucose–MUAC	280	0.28 ± 0.46	0.56	0.20 ± 0.12	0.15
Glucose–HDLc	264	−0.07 ± 0.24	0.74	−0.01 ± 0.17	−0.01
Glucose–TGL	263	0.23 ± 0.26	0.41	−0.02 ± 0.16	0.16
Fasting Insulin–BMI	280	0.48 ± 0.16	0.01	0.33 ± 0.14 ²	0.44
Fasting insulin–WC	280	0.47 ± 0.16	0.02	0.30 ± 0.16	0.34
Fasting insulin–MUAC	280	0.46 ± 0.19	0.05	0.33 ± 0.12 ²	0.39
Fasting insulin–HDLc	265	−0.47 ± 0.18	0.02	−0.04 ± 0.19	−0.25
Fasting insulin–TGL	265	0.03 ± 0.25	0.89	0.15 ± 0.17	0.07
HOMA-IR –BMI	280	0.53 ± 0.18	0.02	0.29 ± 0.13	0.42
HOMA-IR –WC	280	0.46 ± 0.20	0.05	0.28 ± 0.14	0.35
HOMA-IR –MUAC	280	0.50 ± 0.22	0.07	0.29 ± 0.11 ²	0.39
HOMA-IR –HDLc	262	−0.58 ± 0.21	0.02	−0.05 ± 0.19	−0.21
HOMA-IR –TGL	261	−0.01 ± 0.34	0.96	0.20 ± 0.14	0.12

All measures were \log_e transformed prior to analysis. ρ_e : environmental correlation; ρ_g : genetic correlation; ρ_p : phenotypic correlation calculated as $\rho_p = [\sqrt{h^2} \times \sqrt{h^2 g}] + [\sqrt{(1 - h^2 + h^2 g)}]$; SE: standard error; BMI: body mass index; MUAC: mid-upper arm circumference; HOMA-IR: homeostasis model assessment–insulin resistance; HDL: high-density lipoprotein; WC: waist circumference; TGL: triglycerides. P different from zero. All of the variables were significant for P different from one.

¹p value of genetic correlation, adjusted sex and age.

²p < 0.05.

³% of trait variation due to the pleiotropic effects of genes.

hypothesis and also provide the basis for future studies for the identification of genes that could provide insight into the nature of the insulin resistance syndrome, their components and other associated diseases.

In general, this study suggests the importance of environmental and additive genetic factors contributing to variations in glucose homeostasis and lipid levels that contribute to the high prevalence of obesity, hypertension and diabetes in this population.

Financial Support

This project was funded through grants from the National Institutes of Health (NIH-ICIDR Grant AI45451), USA, NCRI and Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais—FAPEMIG. Gustavo Velásquez-Meléndez, Andrea Gazzinelli and Rodrigo Corrêa-Oliveira received grants from the Brazilian National Research Council (CNPq).

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Jenefer Blackwell for providing the primer pairs used for genotyping and the confirmation of the pedigree data bank. We also thank to Pró-

Reitoria de Pesquisa of Universidade Federal de Minas Gerais for support in translation to the English version.

References

- Aballay, L. R., Eynard, A. R., Díaz, M. D. P., Navarro, A. & Muñoz, S. E. (2013) Overweight and obesity: a review of their relationship to metabolic syndrome, cardiovascular disease, and cancer in South America. *Nutr Rev* **71**, 168–179.
- Almasy, L. & Blangero, J. (1998) Multipoint quantitative-trait linkage analysis in general pedigrees. *Am J Hum Genet* **62**, 1198–1211.
- Almasy, L., Dyer, T. D. & Blangero, J. (1997) Bivariate quantitative trait linkage analysis: pleiotropy versus co-incident linkages. *Genet Epidemiol* **14**, 953–958.
- Arya, R., Duggirala, R., Comuzzie, A. G., Puppala, S., Modem, S., Busi, B. R. & Crawford, M. H. (2002) Heritability of anthropometric phenotypes in caste populations of Visakhapatnam, India. *Hum Biol* **74**, 325–344.
- Austin, M. A., Newman, B., Selby, J. V., Edwards, K., Mayer, E. J. & Krauss, R. M. (1993) Genetics of LDL subclass phenotypes in women twins. Concordance, heritability, and commingling analysis. *Arterioscler Thromb* **13**, 687–695.
- Bastard, J., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M., Caron, M., Vidal, H., Capeau, J. & Feve, B. (2006) Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* **17**, 4–12.
- Bastarrachea, R. A., Kent, J. W., Jr., Rozada, G., Cole, S. A., Lopez-Alvarenga, J. C., Aradillas, C., Brito-Zurita, O., Cenda-Flores, R. M., Ibarra-Costilla, E., Gallegos, E., Laviada-Molina,

G. G. Pena et al.

- H., Hernandez-Escalante, V., Rosas, J., Machado, A., Vadillo, E., Ramos, M., Lazalde, B., Santa-Olalla, J., Maccher, J. W. & Comuzzie, A. G. (2007) Heritability and genetic correlations of metabolic disease-related phenotypes in Mexico: preliminary report from the GEMM Family Study. *Hum Biol* **79**, 121–129.
- Bayoumi, R. A., Al-Yahyaee, S. A. S., Albarwani, S. A., Rizvi, S. G., Al-Hadabi, S., Al-Ubaidi, F. E., Al-Hinai, A. T., Al-Kindi, M. N., Adnan, H. T., Al-Barwani, H. S., Comuzzie, A. G., Cai, G., Lopez-Alvarenga, J. C. & Hassan, M. O. (2007) Heritability of determinants of the metabolic syndrome among healthy Arabs of the Oman Family Study. *Obesity* **15**, 551–556.
- Bhopal, R. S. (2013) A four-stage model explaining the higher risk of type 2 diabetes mellitus in South Asians compared with European populations. *Diabet Med* **30**, 35–42.
- Bicalho, P. G., Hallal, P. C., Gazzinelli, A., Knuth, A. G. & Velásquez-Meléndez, G. (2010) Atividade física e fatores associados em adultos de área rural em Minas Gerais, Brasil. *Revista de Saúde Pública* **44**, 884–893.
- Bo, S., Musso, G., Gambino, R., Villosi, P., Gentile, L., Durazzo, M., Cavallo-Perin, P. & Cassader, M. (2012) Prognostic implications for insulin-sensitive and insulin-resistant normal-weight and obese individuals from a population-based cohort. *Am J Clin Nutr* **96**, 962–969.
- Brown, W. M., Beck, S., Lange, E., Davis, C., Kay, C., Langefeld, C. & Rich, S. (2003) Age-stratified heritability estimation in the Framingham Heart Study families. *BMC Genet* **4**, S32. doi:10.1186/1471-2156-4-S1-S32.
- Cameron, A. J., Magliano, D. J. & Soderberg, S. (2013) A systematic review of the impact of including both waist and hip circumference in risk models for cardiovascular diseases, diabetes and mortality. *Obes Rev* **14**, 86–94.
- Dutra, M. S., Béla, S. R., Peixoto-Rangel, A. L., Fakiola, M., Cruz, A. G., Gazzinelli, A., Quites, H. F., Bahia-Oliveira, L. M. G., Peixe, R. G., Campos, W. R., Higino-Rocha, A. C., Miller, N. E., Blackwell, J. M., Antonelli, L. R. & Gazzinelli, R. T. (2013) Association of a NOD2 Gene Polymorphism and T-Helper 17 cells with presumed ocular toxoplasmosis. *J Infect Dis* **207**, 152–163.
- Dyke, B. (1992) PEDSYS: A Pedigree Data Management System. Version: 2.0. *Population Genetics Laboratory*.
- Freeman, M. S., Mansfield, M. W., Barrett, J. H. & Grant, P. J. (2002) Heritability of features of the insulin resistance syndrome in a community-based study of healthy families. *Diabet Med* **19**, 994–999.
- Ghosh, A., Dutta, R. & Sarkar, A. (2010) Heritability estimation of conventional cardiovascular disease risk factors in Asian Indian families: The Calcutta family study. *Indian J Hum Genet* **16**, 28–32.
- Godsland, I. E., Lecamwasam, K. & Johnston, D. G. (2011) A systematic evaluation of the insulin resistance syndrome as an independent risk factor for cardiovascular disease mortality and derivation of a clinical index. *Metabolism* **60**, 1442–1448.
- Greenberg, A. S. & Obin, M. S. (2006) Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr* **83**, 461S–465S.
- Haffner, S. M., Stern, M. P., Hazuda, H. P., Mitchell, B. D. & Patterson, J. K. (1988) Increased insulin concentrations in nondiabetic offspring of diabetic parents. *N Engl J Med* **319**, 1297–1301.
- He, Y. N., Feskens, E., Li, Y. P., Zhang, J., Fu, P., Ma, G. S. & Yang, X. G. (2012) Association between high fat-low carbohydrate diet score and newly diagnosed type 2 diabetes in Chinese population. *Biomed Environ Sci* **25**, 373–382.
- Healy, G. N., Wijndaele, K., Dunstan, D. W., Shaw, J. E., Salmon, J., Zimmet, P. Z. & Owen, N. (2008) Objectively measured sedentary time, physical activity, and metabolic risk: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study (AusDiab). *Diabetes Care* **31**, 369–371.
- Henkin, L., Bergman, R. N., Bowden, D. W., Ellsworth, D. L., Haffner, S. M., Langefeld, C. D., Mitchell, B. D., Norris, J. M., Rewers, M., Saad, M. E., Stamm, E., Wagenknecht, L. E. & Rich, S. S. (2003) Genetic epidemiology of insulin resistance and visceral adiposity: The IRAS Family Study Design and Methods. *Ann Epidemiol* **13**, 211–217.
- Heutink, P. & Oostra, B. A. (2002) Gene finding in genetically isolated populations. *Hum Mol Genet* **11**, 2507–2515.
- Hopper, J. L. & Mathews, J. D. (1983) Extensions to multivariate normal models for pedigree analysis. II. Modeling the effect of shared environment in the analysis of variation in blood lead levels. *Am J Epidemiol* **117**, 344–355.
- Lange, K. & Boehnke, M. (1983) Extensions to pedigree analysis. IV. Covariance components models for multivariate traits. *Am J Med Genet* **14**, 513–524.
- Laws, A., Stefanick, M. L. & Reaven, G. M. (1989) Insulin resistance and hypertriglyceridemia in nondiabetic relatives of patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* **69**, 343–347.
- Lee, J., Chen, L., Snieder, H., Chen Da, F., Lee, L.M., Liu, G. E., Wu, T., Tang, X., Zhan, S. Y., Cao, W. H., Lv, J., Gao, W. J. & Hu, Y. H. (2010) Heritability of obesity-related phenotypes and association with adiponectin gene polymorphisms in the Chinese national twin registry. *Ann Hum Genet* **74**, 146–154.
- Lin, H. E., Boden-Albala, B., Juo, S., Park, N., Rundek, T. & Sacco, R. (2005) Heritabilities of the metabolic syndrome and its components in the Northern Manhattan Family Study. *Diabetologia* **48**, 2006–2012.
- Lohman, T. G., Roche, A. F. & Martorell, R. (1988) *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Champaign, IL: Human Kinetics Press.
- Matos, A. C. & Ladeia, A. M. (2003) Assessment of cardiovascular risk factors in a rural community in the Brazilian state of Bahia. *Arq Bras Cardiol* **81**, 297–302.
- Mathews, D., Hosker, J., Rudenski, A., Naylor, B., Treacher, D. & Turner, R. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* **28**, 412–419.
- Mayer, E. J., Newman, B., Austin, M. A., Zhang, D., Quesenberry, C. P., Edwards, K. & Selby, J. V. (1996) Genetic and environmental influences on insulin levels and the insulin resistance syndrome: an analysis of women twins. *Am J Epidemiol* **143**, 323–332.
- Mills, G., Avery, P., McCarthy, M., Hattersley, A., Levy, J., Hitman, G., Sampson, M. & Walker, M. (2004) Heritability estimates for beta cell function and features of the insulin resistance syndrome in UK families with an increased susceptibility to Type 2 diabetes. *Diabetologia* **47**, 732–738.
- Nagy, S., Poczai, P., Cernák, I., Gorji, A., Hegedűs, G. & Tállér, J. (2012) PICcal: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochem Genet* **50**, 670–672.
- O'Connell, J. R. & Weeks, D. E. (1998) PedCheck: a program for identification of genotype incompatibilities in linkage analysis. *Am J Hum Genet* **63**, 259–266.

Heritability of Glucose and Adiposity

- Oliveira, C. D., Pereira, A., De Andrade, M., Soler, J. & Krieger, J. (2008) Heritability of cardiovascular risk factors in a Brazilian population: Baependi Heart Study. *BMC Med Genet* 9, 32. doi: 10.1186/1471-2350-9-32.
- Parra, E. C., Amado, R. C., Lambertucci, J. R., Rocha, J., Antunes, C. M. & Pena, S. D. (2003) Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 177–182.
- Pimenta, J. R., Zuccherato, L. W., Debex, A. A., Maselli, L., Soares, R. P., Moura-Neto, R. S., Rocha, J., Bydlowski, S. P. & Pena, S. D. (2006) Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. *Hum Hered* 62, 190–195.
- Rao, E., Chiron, S., Wei, Z., Fung, M. M., Chen, Y., Wen, G., Khandrika, S., Ziegler, M. G., Benyamin, B., Montgomery, G., Whitfield, J. B., Martin, N. G., Waalen, J., Hamilton, B. A., Mahata, S. K. & O'Connor, D. T. (2012) Genetic variation within a metabolic motif in the chromogranin a promoter: pleiotropic influence on cardiometabolic risk traits in twins. *Am J Hypertens* 25, 29–40.
- Reaven, G. M. (1997) Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. 1988. *Nutrition* 13, 65; discussion 64, 66.
- Reilly, M. P. & Rader, D. J. (2003) The metabolic syndrome. *Circulation* 108, 1546–1551.
- Rice, T., Perusse, L., Bouchard, C. & Rao, D. C. (1999) Familial aggregation of body mass index and subcutaneous fat measures in the longitudinal Quebec family study. *Genet Epidemiol* 16, 316–334.
- Schmidt, M. I., Watson, R. L., Duncan, B. B., Metcalf, P., Brancati, F. L., Richey Sharrett, A., Davis, C. E. & Heiss, G. (1996) Clustering of dyslipidemia, hyperuricemia, diabetes, and hypertension and its association with fasting insulin and central and overall obesity in a general population. *Metabolism* 45, 699–706.
- Shah, S. H., Hauser, E. R., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Haynes, C., Stevens, R. D., Wenner, B. R., Dowdy, Z. E., Granger, C. B., Ginsburg, G. S., Newgard, C. B. & Kraus, W. E. (2009) High heritability of metabolomic profiles in families burdened with premature cardiovascular disease. *Mol Syst Biol* 5, 258.
- Shugart, Y. Y. & Wang, Y. (2012) Identification of genotype errors. *Methods Mol Biol* 850, 11–24.
- Souren, N., Paulussen, A., Loos, R., Gielen, M., Beunen, G., Fagard, R., Derom, C., Vlietinck, R. & Zeegers, M. (2007) Anthropometry, carbohydrate and lipid metabolism in the East Flanders Prospective Twin Survey: heritabilities. *Diabetologia* 50, 2107–2116.
- Sung, J., Lee, K. & Song, Y. M. (2009) Heritabilities of the metabolic syndrome phenotypes and related factors in Korean Twins. *J Clin Endocrinol Metab* 94, 4946–4952.
- Valle, A. M., Radić, Z., Rana, B. K., Mahboubi, V., Wessel, J., Shih, P. A. B., Rao, E., O'Connor, D. T. & Taylor, P. (2011) Naturally occurring variations in the human cholinesterase genes: heritability and association with cardiovascular and metabolic traits. *J Pharmacol Exp Ther* 338, 125–133.
- Velasquez-Melendez, G., Parra, E. C., Gazzinelli, A., Williams-Blangero, S. & Correa-Oliveira, R. (2007) Genetic determinants of risk factors for cardiovascular disease in a population from rural Brazil. *Hum Biol* 79, 179–190.
- Wagenknecht, L. E., Zaccaro, D., Espeland, M. A., Karter, A. J., O'Leary, D. H. & Haffner, S. M. (2003) Diabetes and progression of carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23, 1035–1041.
- Warren, D. M., Soria, J. M., Souto, J. C., Comuzzie, A., Fontcuberta, J., Blangero, J., Maccluer, J. W. & Almasy, L. (2005) Heritability of hemostasis phenotypes and their correlation with type 2 diabetes status in Mexican Americans. *Hum Biol* 77, 1–15.
- Williams-Blangero, S. & Blangero, J. (2006) Collection of pedigree data for genetic analysis in isolate populations. *Hum Biol* 78, 89–101.
- Xiang, A. H., Azen, S. P., Buchanan, T. A., Raffel, L. J., Tan, S., Cheng, L. S. C., Diaz, J., Tiscano, E., Quinones, M., Liu, C. R., Liu, C. H., Castellani, L. W., Hsueh, W. A., Rotter, J. I. & Hodis, H. N. (2002) Heritability of subclinical atherosclerosis in latino families ascertained through a hypertensive parent. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22, 843–848.
- Zabaneh, D., Chambers, J., Elliott, P., Scott, J., Balding, D. & Kooner, J. (2009) Heritability and genetic correlations of insulin resistance and component phenotypes in Asian Indian families using a multivariate analysis. *Diabetologia* 52, 2585–2589.

Received: 5 March 2013

Accepted: 10 October 2013

ANEXO G - Artigo 2 - Publicado na *ISRN Genetics*

Hindawi Publishing Corporation
ISRN Genetics
Volume 2013, Article ID 694025, 7 pages
<http://dx.doi.org/10.5402/2013/694025>

*Research Article*

No Association of Leptin Receptor Gene Gln223Arg Polymorphism with Capillary Glucose Levels: A Preliminary Population Base Cross-Sectional Study

Geórgia das Graças Pena,¹ Andre Luiz Sena Guimarães,² Rosângela Ramos Veloso,² Tatiana Carvalho Reis,² João Felício Rodrigues Neto,² and Gustavo Velasquez-Melendez¹

¹ Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública, Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, 30130100 Belo Horizonte, MG, Brazil

² Departamento de Odontologia, Programa de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Montes Claros, 39401001 Montes Claros, MG, Brazil

Correspondence should be addressed to Gustavo Velasquez-Melendez; jgume@gmail.com

Received 14 June 2013; Accepted 17 July 2013

Academic Editors: B.-H. Jeong, M. Stemmler, and D. Sun

Copyright © 2013 Geórgia das Graças Pena et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The leptin receptor gene has been reported to associate with insulin and glucose metabolism and adiposity in different study settings and various populations. Therefore, the aim of the study was to investigate the associations of the leptin receptor gene Gln223Arg polymorphism (LEPR Gln223Arg) with high capillary glucose levels. Cross-sectional study with probabilistic sample was carried out in individuals aged ≥ 18 years in an urban area of Montes Claros, MG, Brazil. The capillary glucose was considered high when ≥ 140 mg/dL. The genotypes of LEPR Gln223Arg distribution were as the following: 10.43% GG ($n = 49$), 46.81% AG ($n = 220$), and 42.77% AA ($n = 201$), and there were no prevalence differences between genders, ($P = 0.57$). Multivariate-adjusted models showed that there is no association between the polymorphism LEPR Gln223Arg and capillary high levels of glucose even when adjusted for age, sex, smoking, schooling, and parental history of obesity. In conclusion, no association between the polymorphism LEPR Gln223Arg and elevated blood glucose levels was detected.

1. Introduction

The leptin hormone is an adipocyte-specific ob gene product that regulates the energy balance and multifaceted biological actions and performs its central effects through several neuroendocrine systems [1]. There are multiple lines of evidence with regard to the association between variants of the gene encoding the leptin receptor and the metabolism of the hormone, a certain degree affecting the biological function and serum leptin [2–5]. In this sense, specifically leptin receptor gene Gln223Arg polymorphism (LEPR Gln223Arg) has been mentioned as one of the factors of genetic predisposition to overweight and other cardiometabolic events [4, 6–10] and as suggesting that obesity that genetic variation plays a leptin-resistance [11]. Since the LEPR Gln223Arg has a functional importance for obesity, it could play a significant role in type 2

diabetes mellitus and pathophysiology of human obesity [12]. Furthermore, they may share a common genetic background; that is, the risk alleles for obesity may also be involved in the increased risk of developing type 2 diabetes [13, 14]. Studies with the leptin receptor, it will be important to clarify the functionality of different genetic variants, since several studies have found significant associations linking them to several traits of obesity, diabetes or the metabolic syndrome [10, 13]. For our knowledge, no data are yet available in Brazil on the association of the LEPR Gln223Arg genotypes and capillary glucose levels as a proxy of impaired metabolism glucose. In the present study, we investigated the association between LEPR Arg223Gln polymorphism and the glucose levels in a preliminary population-based study from urban population.

2. Methods

2.1. Study Population and Design. A cross-sectional population-based study was conducted with inhabitants aged ≥ 18 years in Montes Claros, MG, Brazil. Montes Claros now has about 361.915 inhabitants; 95.1% of them in the urban area of the municipality [15].

2.2. Sample Design. This research proposes the sample size procedure for estimating the prevalence of the LEPR Gln223Arg. To draw the sample, we use cluster sampling method in two stages with unequal selection probabilities from the city of Montes Claros, MG state, Brazil. The sample size was based on the expected prevalence of 10% of the less frequent polymorphism [16] with the standard deviation of 1.55 and variation coefficient of 15%. In the first stage, we used the database of census tracts (2010 Census, IBGE) [15] for the purpose of drawing the primary sampling units. On the second stage, we will use the address list for the purpose of drawing households, and all individuals found at the time of the survey were asked to participate in the study.

This study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade Federal de MG (UFMG), and all participants gave written informed consent. In the first stage, we used the database of census tracts (2010 Census, IBGE) [15] for the purpose of drawing households.

Interview was conducted by answered a face-to-face survey questionnaire covering various aspects of their demographic (sex, age, skin color, marital status, and schoolarity) and lifestyle characteristics (physical activity, smoking habits, and alcohol consumption). At the conclusion of the interview, a clinical evaluation of participants was performed which included weight, height, waist circumference, and blood pressure measurements, carried out in triplicate by well-trained staff according to standard procedures [17, 18].

Weight and height were measured according to the recommendations of the World Health Organization, and it included all eligible participants in the selected households [18]. Capillary whole blood was obtained from a finger prick from all subjects in non-fasting status. This drop was placed on the tape reading in disposable and was immediately analyzed using Accucheck Roche (Mannheim, Germany) blood glucose analyzer. Participants were then divided into two categories considered those with high blood glucose values were ≥ 140 mg/dL with capillary whole blood glucose less than that value [19].

Blood pressure was measured, using an ONRON HEM-742INT (SP, Brazil) automatic BP monitor, in the sitting position, using the right upper arm and an appropriately sized cuff after 5 minutes, according to The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure [17]. Measurements were accomplished three times in the participant right arm with a two-minute interval, after an at least five-minute rest. Hypertension was defined as a systolic blood pressure greater than or equal 140 mmHg and/or a diastolic blood pressure greater than or equal to 90 mmHg or reported use of medication for hypertension control [17].

2.3. DNA Extraction. DNA was extracted from oral mucosa scraping from study participants. DNA samples were isolated using silica particles, which are adsorbed to DNA. Then, DNA was washed to remove impurities, and it was eluted in TE buffer, as previously described [20].

Leptin receptor gene polymorphism LEPR Gln223Arg (A > G; rs1137101) was assessed by restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction (RFLP-PCR). Polymerase chain reaction for LEPR gene was performed on 500 ng of genomic DNA, as template. Other reagents were used, including 4 μ M of each primer (F: 5'-ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCCAAATAG-3'; R: 5'-CAATATTTATGGGCTG AACTGACATT-3'; 330 bp), 0.1 mM of each dNTP (Amersham Biosciences, Pittsburgh, PA, USA), 1X PCR buffer, 2.5 mM magnesium chloride, and 2.5 U of Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). The 330 bp PCR product was digested with *MspI* (HpaII) restriction endonuclease (Fermentas Life Sciences, Lithuania), that recognizes the restriction site (C/CGG). For this SNP, the A allele lacks *MspI* restriction site. Thus, individuals carrying A allele show only one PCR product (330 bp), while those who carry G allele show two bands (293 and 37 bp). Positive control for digestion reaction was used, and 10 μ L amplified DNA was digested with 1.0 U of *MspI* for 16 h at 37°C. PCR and restriction reactions were performed into a thermocycler (Eppendorf AG, Hamburg, Germany). The products PCR were visualized by electrophoresis in 10% acrylamide gel stained with silver.

3. Statistical Analyses

The χ^2 test or Fisher's exact test have been performed to compare categorical variables, and Student's *t*-test has been performed to compare age as a continuous variable. All analyzes have been performed using Stata version 12.0 (Stata Corp, Texas, USA) and results with $P < 0.05$ have been considered statistically significant. Afterward variables with $P < 0.05$ have been entered into multivariate logistic regression analysis with the forward elimination method, and adjusted odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) in order to explore the association between the Gln2234Arg polymorphism and capillary glucose levels.

4. Results

This cross-sectional study recruited 470 participants; the mean and standard deviation of age with average age of total population were 44.72 ± 17.99 years; 34.2% (161) of participants were males; and 65.7% (309) were females. Selected demographic characteristics and adiposity traits according to gender are shown in Table 1. The age group with the highest frequency was from 18 to 29 years 25% (119) followed by age greater or equal to 60 years 21% (101). Frequencies of schooling equal to or greater than 9 years of education and income were similar between the sexes. There were no statistically differences in sociodemographic characteristics between genders, except for the marital status. For the lifestyle variables, the consumption of alcohol and tobacco was higher

TABLE I: Sociodemographic characteristics by sex.

Variable	Sex				Total		P value*
	Male		Female		n	%	
	n	%	n	%	n	%	
Age groups (years)							
18–29	40	24.84	79	25.57	119	25.32	0.472
30–39	30	18.63	52	16.83	82	17.45	
40–49	20	12.42	58	18.77	78	16.60	
50–59	34	21.12	56	18.12	90	19.15	
≥60	37	22.98	64	20.71	101	21.49	
Skin color							
White	26	16.25	73	23.70	99	21.15	0.061
Nonwhite	134	83.75	235	76.30	369	78.85	
Marital status							
With spouse	106	65.84	140	45.31	246	52.34	<0.001
Without spouse	55	34.16	169	54.69	224	47.66	
Education (years)							
<5	19	11.88	52	16.88	71	15.71	0.410
≥5 and <8	68	42.50	118	38.31	186	39.74	
≥8 e <12	24	15.00	38	12.34	62	13.25	
≥12	49	30.62	100	32.47	149	31.84	
Income (minimum wages)							
<2	25	15.53	44	14.29	69	14.71	0.251
≥2 a <4	74	45.96	121	39.29	195	41.58	
≥4	62	38.51	143	46.42	205	43.71	
Physical activity							
Yes	113	70.19	239	77.35	352	74.89	0.089
Inactive	48	29.81	70	22.65	118	25.11	
Smoking							
Yes	32	20.00	16	5.23	48	10.30	<0.001
Ex-smoking	43	26.87	35	11.44	78	16.74	
No	85	53.13	255	83.33	340	72.96	
Alcohol intake							
Yes	60	37.27	81	26.21	141	30.00	0.013
No	101	62.73	228	73.79	329	70.00	
Nutritional status							
Underweight	08	4.97	13	4.23	21	4.49	0.099
Normal weight	73	45.34	123	40.07	196	41.88	
Overweight	54	33.54	90	29.32	144	30.77	
Obese	26	16.15	81	26.38	107	22.86	
Abdominal obesity							
No	135	83.85	178	57.79	313	66.74	<0.001
Yes	26	16.15	130	42.21	156	33.26	
Hypertension							
Yes	96	59.63	176	57.33	272	58.12	0.632
No	65	40.37	131	42.67	196	41.88	
History of parent's obesity							
Yes	144	89.44	262	85.06	406	86.57	0.187
No	161	10.56	46	14.94	63	13.43	
Glucose level							
Normal (<140 mg/dL)	137	85.09	267	86.97	404	86.32	0.574
High (≥140 mg/dL)	24	14.91	40	13.03	64	13.68	

* Chi-square test.

TABLE 2: Sociodemographic characteristics by glucose level.

Variable	Glucose level				Total		P value*
	Normal < 140 mg/dL		High ≥ 140 mg/dL		n	%	
	n	%	n	%			
Age groups (years)							
18–29	117	28.96	2	3.13	119	25.43	<0.001
30–39	78	19.31	4	6.25	82	17.52	
40–49	68	16.83	9	14.06	78	16.42	
50–59	71	79.78	18	28.14	90	19.02	
≥60	70	69.31	31	48.44	101	21.60	
Skin color							
White	79	19.65	20	31.25	99	21.24	0.035
Nonwhite	323	80.35	244	68.75	367	78.76	
Marital status							
With spouse	205	50.74	39	60.94	244	52.14	0.129
Without spouse	199	49.26	25	39.06	224	47.86	
Education (years)							
<5	65	16.17	4	6.25	69	15.17	0.001
≥5 and <8	168	41.79	18	28.13	186	39.74	
≥8 e <12	54	13.43	8	12.50	62	13.30	
≥12	115	28.61	34	53.13	149	31.97	
Income (minimum wages)							
<2	60	14.89	9	14.06	69	14.78	0.981
≥2 a <4	166	41.19	27	42.19	193	41.33	
≥4	177	43.92	28	43.75	205	43.90	
Physical activity							
Yes	313	77.48	37	57.81	350	74.79	0.001
Inactive	91	22.52	27	42.19	118	25.21	
Smoking							
Yes	42	10.45	6	12.50	48	10.34	0.002
Ex-smoking	57	14.18	20	25.97	77	16.59	
No	303	75.37	36	58.06	339	73.06	
Alcohol intake							
Yes	128	31.68	13	20.31	141	30.13	0.065
No	276	68.32	51	79.69	327	69.87	
Nutritional status							
Underweight	19	4.73	2	3.13	21	4.51	0.012
Normal weight	174	43.28	21	32.81	195	41.85	
Overweight	127	31.59	16	25.00	16	30.69	
Obese	82	20.40	25	39.06	25	22.96	
Abdominal obesity							
No	279	69.06	33	52.38	312	66.81	0.009
Yes	125	30.94	30	47.62	155	33.19	
Hypertension							
Yes	254	63.18	16	25.00	270	57.94	<0.001
No	148	36.82	48	75.00	196	42.06	

*Chi-square test.

in the male group ($P < 0.05$). The genotypes of Gln223Arg polymorphism in the LEPR gene distribution were as the following: GG genotype was 10.43% ($n = 49$), 46.81% AG ($n = 220$), and 42.77% AA ($n = 201$) (data not shown).

The percentage of individuals having fasting blood glucose levels greater than or equal to 140 mg/L in our sample was 13.68% ($n = 64$, 95% CI: 0.12–0.20). When the sample was distributed by glucose level was observed that age group,

TABLE 3: Multivariate logistic odds ratio and confidence interval (95% CI) of association between genotype and high capillary glucose levels (≥ 140 mg/dL).

Capillary glucose (≥ 140 mg/dL)	OR	95% CI	P value
Model 1 (not adjusted)			
Genotype GG	1	—	—
Genotype AG	0.83	0.34–2.05	0.702
Genotype AA	1.06	0.43–2.59	0.889
Model 2 (adjust: age)			
Genotype AG	0.84	0.32–2.16	0.721
Genotype AA	0.88	0.79–2.26	0.798
Model 3 (adjust: age and gender)			
Genotype AG	0.84	0.72–2.13	0.724
Genotype AA	0.89	0.34–2.28	0.809
Model 4 (adjust: age, gender, and education)			
Genotype AG	0.87	0.33–2.27	0.790
Genotype AA	0.89	0.34–2.31	0.824
Model 5 (adjust: age, gender, education, and smoke)			
Genotype AG	0.99	0.36–2.75	0.999
Genotype AA	1.01	0.37–2.75	0.981
Model 6 (adjust: age, gender, education, smoke, and alcohol intake)			
Genotype AG	1.05	0.38–2.90	0.917
Genotype AA	1.02	0.37–2.80	0.962
Model 7 (adjust: age, gender, education, smoke, alcohol intake, and WC)			
Genotype AG	1.00	0.36–2.77	0.995
Genotype AA	1.01	0.37–2.78	0.976
Model 8 (adjust: age, gender, education, smoke, alcohol intake, WC, and parental history of obesity)			
Genotype AG	0.97	0.35–2.71	0.968
Genotype AA	1.00	0.36–2.76	0.988

WC: waist circumference.

skin color, schooling, physical activity, nutritional status, waist circumference and hypertension were associated with glucose levels excepted marital status, income and alcohol intake (Table 2). Neither in the univariate analysis nor in the multivariate analysis for the models adjusted by the potentially confounders (age, sex, schooling, smoking, alcohol intake and waist circumference) an association between the polymorphism LEPR Gln223Arg and elevated blood glucose levels was detected (Table 3).

5. Discussion

In this population-based study, we estimate the associations between genotype frequencies determined using PCR-RFLP analysis of the Gln223Arg polymorphism and the high capillary glucose levels. Several studies have described the associations with obesity, hypertension, or other chronic diseases [9, 21–23], but the conclusions about the glucose levels are not yet clear. The Gln223Arg polymorphism is within the region encoding the extracellular domain of the leptin receptor, and, therefore, the amino acid change affects all forms of the receptor. It has been shown that LEPR Gln223Arg polymorphism is associated with the variation in ligand binding; higher levels of ligand binding activity have been demonstrated in individuals homozygous for the

G (LEPR Arg223Arg) allele than in carriers of the A (LEPR 223Gln) allele, and the leptin receptors in the hypothalamus and the pancreatic beta-cells could be where they mediate leptin-induced inhibition of insulin secretion [8]. Despite some studies have been found to be associated with diabetes and insulin homeostasis [13, 24]. However, in this study, no association between the polymorphism LEPR Gln223Arg and elevated blood glucose levels was detected. This is similar to a previous study conducted in other populations in which the Gln223Arg in the leptin receptor was not associated with body weight, leptin concentration, and metabolic parameters [13, 25]. Furthermore, the knowledge on the complex signaling pathways involved the insulin resistance and diabetes and could provide the foundation for improved clinical management of patients with metabolic diseases. The lack of association could be due to this complex pathogenesis of hyperglycemia which involves a numerous of genetic and environmental factors which other studies should attempt to control.

6. Conclusions

In summary, in this study, we report no association between Gln223Arg polymorphism and capillary whole glucose levels. This association remained insignificant after controlling

many potentially confounders, and we did not measure leptin levels.

Conflict of Interests

The authors declared that there is no conflict of interests.

Authors' Contribution

Gustavo Velasquez-Melendez, João Felício Rodrigues Neto, Geórgia das Graças Pena, and Andre Luiz Sena Guimarães designed research; Gustavo Velasquez-Melendez, João Felício Rodrigues Neto, Geórgia das Graças Pena, Rosângela Ramos Veloso, and Tatiana Carvalho Reis conducted research; Gustavo Velasquez-Melendez, Geórgia das Graças Pena, and Andre Luiz Sena Guimarães analyzed data; Gustavo Velasquez-Melendez, Geórgia das Graças Pena, and Andre Luiz Sena Guimarães wrote the paper. Gustavo Velasquez-Melendez and Geórgia das Graças Pena had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final paper. All authors abide by the Association for Medical Ethics (AME) ethical rules of disclosure.

Acknowledgments

This study was supported by Grant (EFP_00001409) from the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de MG (FAPEMIG). Dr. Guimarães and Dr. Velasquez-Melendez are research fellows of Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

References

- [1] P. Trayhurn, N. Hoggard, J. G. Mercer, and D. V. Rayner, "Leptin: fundamental aspects," *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, vol. 23, supplement 1, pp. 22–28, 1999.
- [2] V. S. Mattevi, V. M. Zembrzuski, and M. H. Hutz, "Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil," *International Journal of Obesity*, vol. 26, no. 9, pp. 1179–1185, 2002.
- [3] R. Rosmond, Y. C. Chagnon, G. Holm et al., "Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 85, no. 9, pp. 3126–3131, 2000.
- [4] M. Wauters, I. Mertens, M. Chagnon et al., "Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women," *International Journal of Obesity*, vol. 25, no. 5, pp. 714–720, 2001.
- [5] H.-Y. Woo, H. Park, C.-S. Ki, Y. L. Park, and W. G. Bae, "Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea," *Cancer Letters*, vol. 237, no. 1, pp. 137–142, 2006.
- [6] Y. C. Chagnon, W. K. Chung, L. Pérusse, M. Chagnon, R. L. Leibel, and C. Bouchard, "Linkages and associations between the leptin receptor (LEPR) gene and human body composition in the Québec Family Study," *International Journal of Obesity*, vol. 23, no. 3, pp. 278–286, 1999.
- [7] Y. C. Chagnon, J. H. Wilmore, I. B. Borecki et al., "Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 85, no. 1, pp. 29–34, 2000.
- [8] N. D. Quinton, A. J. Lee, R. J. M. Ross, R. Eastell, and A. I. E. Blakemore, "A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women," *Human Genetics*, vol. 108, no. 3, pp. 233–236, 2001.
- [9] N. Yiannakouris, M. Yannakoulia, L. Melistas, J. L. Chan, D. Klimis-Zacas, and C. S. Mantzoros, "The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 86, no. 9, pp. 4434–4439, 2001.
- [10] K. G. Jackson, J. Delgado-Lista, R. Gill et al., "The leptin receptor Gln223Arg polymorphism (rs1137101) mediates the postprandial lipaemic response, but only in males," *Atherosclerosis*, vol. 225, no. 1, pp. 135–141, 2012.
- [11] L. Attig, A. Vigé, A. Gabory et al., "Dietary alleviation of maternal obesity and diabetes: increased resistance to diet-induced obesity transcriptional and epigenetic signatures," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 6, Article ID e66816, 2013.
- [12] P. Trayhurn, C. Bing, and I. S. Wood, "Adipose tissue and adipokines—energy regulation from the human perspective," *Journal of Nutrition*, vol. 136, no. 7, pp. 1935S–1939S, 2006.
- [13] T. Salopuro, L. Pulkkinen, J. Lindström et al., "Genetic variation in leptin receptor gene is associated with type 2 diabetes and body weight: the Finnish Diabetes Prevention Study," *International Journal of Obesity*, vol. 29, no. 10, pp. 1245–1251, 2005.
- [14] N. Y. Souren, A. D. Paulussen, A. Steyls et al., "Common SNPs in LEP and LEPR associated with birth weight and type 2 diabetes-related metabolic risk factors in twins," *International Journal of Obesity*, vol. 32, no. 8, pp. 1233–1239, 2008.
- [15] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, "CENSO 2010," 2010, <http://censo2010.ibge.gov.br/>.
- [16] C. C. Ragin, C. Dallal, M. Okobia et al., "Leptin levels and leptin receptor polymorphism frequency in healthy populations," *Infectious Agents and Cancer*, vol. 4, supplement 1, article S13, 2009.
- [17] A. V. Chobanian, G. L. Bakris, H. R. Black et al., "The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report," *Journal of the American Medical Association*, vol. 289, no. 19, pp. 2560–2572, 2003.
- [18] WHO, *The Use and Interpretation of Anthropometry*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1995.
- [19] WHO, *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/IDF Consultation*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2006.
- [20] A. L. S. Guimarães, A. R. de Sá, J. M. N. Victória et al., "Association of interleukin-1 β polymorphism with recurrent aphthous stomatitis in Brazilian individuals," *Oral Diseases*, vol. 12, no. 6, pp. 580–583, 2006.
- [21] P. Gu, W. Jiang, M. Chen et al., "Association of leptin receptor gene polymorphisms and essential hypertension in a Chinese population," *Journal of Endocrinological Investigation*, vol. 35, no. 9, pp. 859–865, 2012.
- [22] M. T. Guagnano, M. R. Manigrasso, E. Ballone et al., "Association between serum leptin levels and 24-hour blood pressure

- in obese women," *Obesity Research*, vol. 11, no. 4, pp. 549–555, 2003.
- [23] Y. Zheng, K. Xiang, R. Zhang, W. Jia, J. Lu, and J. Tang, "Association of Gln223Arg variant in leptin receptor gene with metabolic abnormalities and hypertension in type II diabetes mellitus in Shanghai "Han" population," *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, vol. 38, no. 3, pp. 174–177, 1999.
- [24] T. A. Lakka, T. Rankinen, S. J. Weisnagel et al., "Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and changes in glucose homeostasis in response to regular exercise in nondiabetic individuals: the HERITAGE family study," *Diabetes*, vol. 53, no. 6, pp. 1603–1608, 2004.
- [25] Z. Komşu-Örnek, F. Demirel, A. Dursun, B. Ermiş, I. E. Pişkin, and A. Bideci, "Leptin receptor gene Gln223Arg polymorphism is not associated with obesity and metabolic syndrome in Turkish children," *Turkish Journal of Pediatrics*, vol. 54, no. 1, pp. 20–24, 2012.

ANEXO H - Artigo 3 - Publicado na Cardiology Research and Practice

Hindawi Publishing Corporation
Cardiology Research and Practice
Volume 2014, Article ID 879037, 7 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/879037>

Research Article

Leptin Receptor Gene Gln223Arg Polymorphism Is Not Associated with Hypertension: A Preliminary Population-Based Cross-Sectional Study

Geórgia das Graças Pena,¹ Andre L. S. Guimarães,² Rosângela R. Veloso,² Tatiana C. Rels,² Crizian S. Gomes,¹ João F. R. Neto,² and Gustavo Velasquez-Melendez¹

¹ Maternal-Child Nursing and Public Health Department of the Nursing School, Nursing School, Federal University of Minas Gerais, (UFMG), 30130-100 Belo Horizonte, MG, Brazil

² Department of Dentistry, Program in Health Sciences, State University of Montes Claros (UNIMONTES), 39401-001 Montes Claros, MG, Brazil

Correspondence should be addressed to Gustavo Velasquez-Melendez; jguveme@gmail.com

Received 20 September 2013; Accepted 11 November 2013

Academic Editor: Michael S. Wolin

Copyright © 2014 Geórgia das Graças Pena et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Hypertension is responsible for high morbidity and mortality as one of the most important cardiometabolic risk factors. The aim of the study was to investigate whether the Gln223Arg in the leptin receptor (LEPR) influences the prevalence of hypertension. A cross-sectional study was carried out in individuals aged ≥ 18 years. Polymorphism identification was performed using PCR-RFLP analysis. Participants with blood pressure $\geq 140/90$ mmHg or medication use were considered hypertensive. Frequencies, means, cross-tabulations, and multivariate models were produced to study differences in hypertension prevalence by genotypes. The study includes 470 participants. The frequency of GG polymorphism variant was 10.43%, 46.81% AG, and 42.77% AA. The distribution of hypertension frequency by LEPR genotypes was the following: AA 43.8%, AG 40.4%, and GG 40.8%; there were no significant differences between groups. Comparative analysis which used multivariate Poisson regression adjusted by many potential confounders (age, sex, schooling, smoking, alcohol intake, obesity, and family history of parental obesity) did not modify this result. In this large sample of population-based study, the association of the LEPR Gln223Arg gene polymorphism with hypertension was not observed.

1. Introduction

Cardiometabolic outcomes are responsible for high mortality worldwide both in developed and developing societies [1, 2]. Among the top ten causes of death, two are cardiovascular diseases (CVD) and responsible for 12.8% of the deaths in the world [3].

Moreover, CVD are related to complex phenotypes with multifactorial etiology such as obesity, uncontrolled blood pressure, increased waist circumference, increased fractions of LDL and triglycerides, decreased HDL [2, 4–9], presence of metabolic syndrome [10–12], diabetes [13], and genetic polymorphisms [14]. These complex phenotypes contribute to the increase of the prevalence of CVD and increasing the costs in the public health [15].

Therefore, studies which investigate the association of these complex phenotypes, such as cardiometabolic risk factors, take on a definite importance in the context of public health and the search of different analysis tools such as evaluation of polymorphisms. These are interesting strategies to understand the contribution of the epidemiology of CVD better.

The mechanism of leptin signaling in the regulation of energy homeostasis in human metabolism [16] is considered of utmost importance. Besides the leptin gene receptor, polymorphism possibly intermeddles with the regulation of body weight, obesity, fat mass distribution, serum leptin levels, glucose homeostasis, and diabetes, among others [17–24].

The variants of the leptin receptor Gln223Arg gene (LEPR Gln223Arg) have been reported to associate with metabolic

functions and adiposity in different studies, contribute to inadequate metabolism of the hormone, and affect the biological functions and leptin resistance [19, 21, 24, 25]. Thus, this polymorphism could be involved as a genetic risk factor in overweight and other cardiometabolic events [17, 20, 22–24]. Evidence of a significant effect of the Gln223Arg polymorphism on blood pressure regulation has been reported in some recent studies [21, 26, 27]. The aim of the study was to study the association of the LEPR Gln223Arg with prevalence of hypertension in an urban Brazilian population.

2. Methods

2.1. Study Population and Design. A cross-sectional population-based study was conducted with residents aged ≥ 18 years in Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. Montes Claros now has about 361,915 inhabitants—95.1% of them in the urban municipality area [28].

2.2. Sample Design. This research proposes the sample size procedure for estimating the prevalence of the LEPR Gln223Arg. The sample size was based on the expected prevalence of 10% of the less frequent polymorphism with the standard deviation of 1.55 and variation coefficient of 15%. In the first stage, the database of census tracts (2010 Census, IBGE) [28] was used for drawing the primary sampling units. In the second stage, the address list for the purpose of drawing households and all individuals in the survey asked to participate in the study will be used.

2.3. Data Collection. An interview was conducted by answering a face-to-face survey questionnaire covering various aspects of their demographic (sex, age, skin color, marital status, and schooling) and lifestyle characteristics (physical activity, smoking habits, and alcohol consumption). At the conclusion of the interview, a clinical evaluation of participants was performed; this included weight, height, waist circumference, and blood pressure measurements, carried out three-fold, by well-trained staff in keeping with standard procedures [29, 30].

Anthropometric variables were measured as suggested in the recommendations of the World Health Organization [30] and included all eligible participants in the selected households. For the adults, overweight was defined as BMI ≥ 25 kg/m² and obese as BMI ≥ 30 kg/m². Waist circumference (WC) was measured to the nearest millimeter, using a nonextendable measuring tape, and taken exactly halfway between the margin of the lowest rib and the iliac crest. The participants were in a standing position (accurate to 0.1 cm).

The capillary whole blood was obtained without fasting from a finger prick and was immediately analyzed with the use of a Performa (Roche Diagnostic Systems[®], Nutley, NJ, USA) blood glucose analyzer. Participants were considered normal at less than 140 mg/dL or high when greater than or equal to 140 mg/dL.

Blood pressure was measured, using an ONRON HEM-742INT[®] automatic BP monitor, in the sitting position, using the right upper arm and an appropriately sized cuff after a 5 min interval, according to The Seventh Report of the Joint

National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure [29]. Measurements were performed three times in the participant's right arm with a two-minute interval, after a rest period of at least five minutes. Hypertension was defined as a systolic blood pressure greater than or equal to 140 mmHg and/or a diastolic blood pressure greater than or equal to 90 mmHg or reported use of medication for hypertension control [29].

2.4. DNA Extraction and Genotyping. The collection of genomic DNA was obtained through an oral swab performed with a sterile plastic spatula. After gentle scraping of oral mucosa, the tip of the spatula was immersed in 2 mL sterile microtubes containing 1500 μ L of Krebs buffer (NaCl 20%, KCl 2%, CaCl₂ 2%, H₂O 2%, MgSO₄, KH₂PO₄, and C₆H₁₂O₆) and stored at -20° C in the Laboratory of Health Research, Universidade Estadual de Montes Claros for future DNA extraction. DNA extraction was carried out by protocol described earlier [31, 32].

Gln223Arg (rs1137101) polymorphisms were assessed by PCR amplification and digestion. The primers used were 5'-ACCCTTTAAGCTGGGTGCCCAAATAG-3' and 5'-CAATATTTATGGGCTGAACTGACATT-3' primers. For amplification and genotyping, 100 ng of DNA was amplified using primers specific to 10 pmol of primers: forward, 2.5 μ L, dNTP mix (25 mM of each), 2.5 μ L 10X PCR buffer, 1.25 μ L magnesium chloride (50 mM), and 2.5 units of Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen[®] Life Technologies, Carlsbad, USA). The conditions for the PCR assay were denaturation at 95°C for 5 min followed by 35 cycles of denaturation at 95°C for 1 min, annealing at 57.4°C for 1 min, and extension at 72°C for 1 min, and a final extension at 72°C for 10 min. This primer pair produced a fragment of 330 bp. The 330 bp PCR product was digested using the MspI restriction endonuclease (Promega[®], Madison, WI, USA). The substitution from A to G allele produce a single cut site yielding two bands of 293 and 37 bp.

2.5. Statistical Analyses. Studied population characteristics were presented by the absolute and relative frequencies of the demographic and life style variables stratified by sex. Statistical differences were evaluated by Pearson's chi-square test, and the significance level was set at 5% ($P < 0.05$). First, sample distributions of the sociodemographic variables (age, sex, schooling, smoking, alcohol intake, obesity and family history of parental obesity, family income, nutritional, and marital status) according to genotype Gln223arg polymorphism were estimated. Subsequently, associations between Gln223arg polymorphism and hypertension were explored with the use of crude prevalence ratios (PR) with 95% confidence intervals; a logistic regression model was used. Adjusted PR for potential confounders were obtained using a multivariable Poisson regression model including all variables. All analyses were conducted in Stata version 12.0 software, StataCorp[®], Texas, USA.

2.6. Ethics Committee Approval. This study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), in accordance with National Health

TABLE 1: Sociodemographic characteristics by sex. Montes Claros, Brazil, 2013.

Variable	Sex				Total		P value*
	Male		Female		n	%	
	n	%	n	%	n	%	
Age groups (years)							0.472
18–29	40	24.84	79	25.57	119	25.32	
30–39	30	18.63	52	16.83	82	17.45	
40–49	20	12.42	58	18.77	78	16.60	
50–59	34	21.12	56	18.12	90	19.15	
≥60	37	22.98	64	20.71	101	21.49	
Skin color							0.061
White	26	16.25	73	23.70	99	21.15	
Nonwhite	134	83.75	235	76.30	369	78.85	
Marital status							<0.001
With spouse	106	65.84	140	45.31	246	52.34	
Without spouse	55	34.16	169	54.69	224	47.66	
Education (years)							0.410
0–5	19	11.88	52	16.88	71	15.17	
6–7	68	42.50	118	38.31	186	39.74	
8–11	24	15.00	38	12.34	62	13.25	
≥12	49	30.62	100	32.47	149	31.84	
Income (minimum wages)							0.251
<2	25	15.53	44	14.29	69	14.71	
2–3	74	45.96	121	39.29	195	41.58	
≥4	62	38.51	143	46.42	205	43.71	
Physical activity							0.089
Yes	113	70.19	239	77.35	352	74.89	
Inactive	48	29.81	70	22.65	118	25.11	
Smoking							<0.001
Yes	32	20.00	16	5.23	48	10.30	
Ex-smoking	43	26.87	35	11.44	78	16.74	
No	85	53.13	255	83.33	340	72.96	
Alcohol intake							0.013
Yes	60	37.27	81	26.21	141	30.00	
No	101	62.73	228	73.79	329	70.00	

*P value < 0.05 for differences between male and female (chi-square test).

Council Resolution 196/96. All of the subjects who took part in the study were informed about the objectives of the research and their rights as participants, and then they were asked to sign a consent form.

3. Results

In the preliminary results, sample size was 470 participants, 34.2% (161) males and 65.7% (309) females. The mean and standard deviation of age with average age of total population was 44.72 ± 17.99 years. Selected demographic characteristics according to sex are shown in Table 1. The age group with the highest frequency was 18 to 29 years 25% (119) followed by age greater or equal to 60 years 21% (101). Frequencies of schooling equal to or greater than 9 years of education and income were similar between the sexes. There were no statistical differences in sociodemographic characteristics

between sexes, except for the marital status. Regarding the married status (with spouse), the highest frequency was observed in men (65.8%) than women (45.3%; $P < 0.001$). For the lifestyle habits, the consumption of alcohol and tobacco was higher in the male group ($P < 0.05$).

Table 2 shows high prevalence of abdominal obesity among the women. Prevalence of nutritional status, hypertension, and glucose levels was similar between sexes. The genotypes of Gln223Arg polymorphism in the LEPR gene distribution were the following: GG polymorphism variant was 10.43% ($n = 49$), 46.81% AG ($n = 220$), and 42.77% AA ($n = 201$).

In the univariate analysis, carriers of genotype AA presented a slightly higher prevalence of hypertension (43.78%) when compared to those who have GG genotype (40.8%). The prevalence ratios were not significant (RP = 1.07; CI 95%: 0.73–1.55). The distribution of hypertension frequency

TABLE 2: Nutritional status, glucose levels, and blood pressure status by sex. Montes Claros, Brazil, 2013.

Variables	Sex				Total		P value*
	Male		Female		n	%	
	n	%	n	%	n	%	
Nutritional status							0.099
Underweight	08	4.97	13	4.23	21	4.49	
Normal weight	73	45.34	123	40.07	196	41.88	
Overweight	54	33.54	90	29.32	144	30.77	
Obese	26	16.15	81	26.38	107	22.86	
Abdominal obesity							<0.001
No	135	83.85	178	57.79	313	66.74	
Yes	26	16.15	130	42.21	156	33.26	
Hypertension							0.632
Yes	96	59.63	176	57.33	272	58.12	
No	65	40.37	131	42.67	196	41.88	
Glucose level							0.574
Normal (<140 mg/dL)	137	85.09	267	86.97	404	86.32	
High (≥140 mg/dL)	24	14.91	40	13.03	64	13.68	

*P < 0.05 for differences between male and female (chi-square test).

by genotypes LEPR was the following by group: AA 43.8% ($n = 88$), AG 40.4% ($n = 88$), and GG 40.8% ($n = 20$); there were no significant differences between groups ($P = 0.76$).

Comparative analysis using multivariate Poisson regression adjusted by many potential confounders (age, sex, schooling, smoking, alcohol intake, waist circumference, glucose levels, and obesity and family history of parental obesity) did not modify this result. According to the multivariable Poisson regression model, genotypes of Gln223Arg polymorphism did not remain significantly associated with hypertension in various multivariate models (PR = 0.95; 95% CI: 0.70–1.27) after adjustment for age, sex, schooling, smoking, alcohol intake, waist circumference, and parental obesity history (Table 3).

4. Discussion

In this population-based study, the frequencies of LEPR Gln223Arg and the association between genotype frequencies and the mild levels of blood pressure were estimated. Thus by far, this is the first population-base study describing a genotype frequency of the LEPR Gln223Arg variant in healthy populations of Brazil. The genotype frequencies of three categories of polymorphism studied correspond to 10, 47, and 42% for GG, AG, and AA, respectively. This is rather dissimilar to recent studies carried out in healthy American multiethnic population (African, African-American, African-Caribbean, Caucasian, Asian, and other ethnic groups) in which the frequencies is diverse. For example, AA ranged from 13.4% in African-Caribbean to 37.9% in Caucasian, while the GG ranged from 14.16% in Caucasian to 34.62% in Asian/other minority ethnic groups. However, the genotype frequencies founded are more similar with the Caucasians [33].

Several lines of evidence suggest that most of the polymorphisms associated with signaling impairment of leptin action in the central level would correspond to Gln223Arg polymorphism and in turn be associated with high circulating of leptin levels, and this may play a role in the pathophysiology of hypertension obese [20, 22]. The mechanism that explains the relationship between obesity and hypertension could be mediated by the increase of sympathetic nervous system activity.

According to recent studies, positive relationships between plasma leptin and 24-hour blood pressure levels have been shown. In a cross-sectional study in a population of 70 nondiabetic, normotensive, and obese women, serum leptin levels were directly related to 24-hour blood pressure levels aside BMI; this evinces that leptin levels could be a crucial parameter for determining the blood pressure level [34]. Obesity-induced hypertension could be secondary to insulin resistance and/or hyperinsulinemia [35]. In obese hypertensive subjects, changes in serum leptin levels correlated to changes in blood pressure levels after weight loss regardless of insulin resistance confirming the role of leptin in the pathophysiology of hypertension in obese patients [36].

The relationship between serum leptin levels was also shown in hypertensive participants. After adjustment for confounders, the authors concluded that free leptin surrogates are associated with masked hypertension in nonobese normoglycemic subjects. Following the same lines of evidence, in a study of 284 volunteers with various levels of waist to hip ratio, the differences in blood pressure by LEPR variants remained significant after adjusting for the influence of obesity and body fat distribution, as well as insulin and leptin [21].

In this study, no association between Gln223Arg polymorphism and hypertension is reported. This association

TABLE 3: Multivariate Poisson regression model (prevalence ratio and 95% CI) for hypertension, Montes Claros, Brazil, 2013.

Models	PR	95% CI	P value
Model 1			
Genotype GG*	1	—	—
Genotype AG	0.98	0.68–1.43	0.954
Genotype AA	1.07	0.73–1.55	0.712
Model 2 (adjust: age)			
Genotype AG	1.02	0.75–1.38	0.887
Genotype AA	0.98	0.72–1.33	0.919
Model 3 (adjust: age and sex)			
Genotype AG	1.00	0.75–1.38	0.895
Genotype AA	0.97	0.72–1.32	0.891
Model 4 (adjust: age, sex, and education)			
Genotype AG	1.02	0.75–1.39	0.868
Genotype AA	0.97	0.72–1.32	0.881
Model 5 (adjust: age, sex, education, and smoke)			
Genotype AG	1.04	0.75–1.43	0.801
Genotype AA	0.98	0.72–1.35	0.941
Model 6 (adjust: age, sex, education, smoke, and alcohol intake)			
Genotype AG	1.04	0.75–1.42	0.808
Genotype AA	0.98	0.72–1.35	0.938
Model 7 (adjust: age, sex, education, smoke, alcohol intake, and WC)			
Genotype AG	1.03	0.75–1.43	0.808
Genotype AA	0.99	0.72–1.35	0.938
Model 8 (adjust: age, sex, education, smoke, alcohol intake, WC, and parental obesity history)			
Genotype AG	1.02	0.75–1.38	0.862
Genotype AA	0.95	0.70–1.27	0.748

*GG genotype as reference group. WC: waist circumference.

remained nonsignificant after controlling for many potential confounders and measuring leptin levels that were not measured. It is known that casual blood pressure level does not account for the blood pressure circadian oscillation and this lack of precision in the measurements of blood pressure could explain the nonassociation between polymorphism and hypertension [37].

The results should be interpreted cautiously since the preliminary data results are about a complex sample and need weighing adjustments for different probabilities of selection of each participant.

In conclusion, this study does not provide evidence for a role of the LEPR gene Gln223Arg polymorphism in increasing the prevalence of mild hypertension in a cross-sectional population-based study. Thus, this study failed to provide evidence for a differential prevalence of mild hypertension by groups of the LEPR Q223R gene polymorphism.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Authors' Contribution

Gustavo Velasquez-Melendez, João F. R. Neto, Geórgia das Graças Pena, and Andre L. S. Guimarães designed the research; Gustavo Velasquez-Melendez, João F. R. Neto, Geórgia das Graças Pena, Rosângela R. Veloso, and Tatiana C. Reis conducted the research; Gustavo Velasquez-Melendez, Geórgia das Graças Pena, Crizian S. Gomes, and Andre L. S. Guimarães analyzed the data; Gustavo Velasquez-Melendez, João F. R. Neto, Geórgia das Graças Pena, and Andre L. S. Guimarães wrote the paper. Gustavo Velasquez-Melendez and Geórgia das Graças Pena had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final paper. All authors contributed to conception, design, and paper preparation, read, and approved the final manuscript. All authors abide by the Association for Medical Ethics (AME) ethical rules of disclosure.

Acknowledgments

This study was supported by Grant (EFP_00001409) from the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais

(FAPEMIG). Dr. Guimarães and Dr. Velasquez-Melendez are research fellow of CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

References

- [1] A. O. Odgaard, W. P. Koh, J. Yuan, M. D. Gross, and M. A. Pereira, "Western-style fast food intake and cardiometabolic risk in an Eastern country," *Circulation*, vol. 126, pp. 182–188, 2012.
- [2] L. Pérusse, J.-P. Després, A. Tremblay et al., "Genetic and environmental determinants of serum lipids and lipoproteins in French Canadian families," *Arteriosclerosis*, vol. 9, no. 3, pp. 308–318, 1989.
- [3] WHO, *The Top 10 Causes of Death*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2011.
- [4] J. D. Brunzell and A. E. Ayyobi, "Dyslipidemia in the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus," *The American Journal of Medicine*, vol. 115, no. 8, supplement 1, pp. 24–28, 2003.
- [5] K. L. Edwards, M. C. Mahaney, A. G. Motulsky, and M. A. Austin, "Pleiotropic genetic effects on LDL size, plasma triglyceride, and HDL cholesterol in families," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 19, no. 10, pp. 2456–2464, 1999.
- [6] M. F. Feitosa, T. Rice, T. Rankinen et al., "Common genetic and environmental effects on lipid phenotypes: the HERITAGE family study," *Human Heredity*, vol. 59, no. 1, pp. 34–40, 2005.
- [7] J. E. Hokanson, C. D. Langefeld, B. D. Mitchell et al., "Pleiotropy and heterogeneity in the expression of atherogenic lipoproteins: the IRAS family study," *Human Heredity*, vol. 55, no. 1, pp. 46–50, 2003.
- [8] L. F. Marcopito, S. S. F. Rodrigues, M. A. Pacheco, M. M. Shirassu, A. J. Goldfeder, and M. A. de Moraes, "Prevalência de alguns fatores de risco para doenças crônicas na cidade de São Paulo," *Revista de Saúde Pública*, vol. 39, pp. 738–745, 2005.
- [9] G. Velásquez-Meléndez, F. C. Parra, A. Gazzinelli, S. Williams-Blangero, and R. Correa-Oliveira, "Genetic determinants of risk factors for cardiovascular disease in a population from rural Brazil," *Human Biology*, vol. 79, no. 2, pp. 179–190, 2007.
- [10] A. Laws, M. L. Stefanick, and G. M. Reaven, "Insulin resistance and hypertriglyceridemia in nondiabetic relatives of patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 69, no. 2, pp. 343–347, 1989.
- [11] M. C. Schumacher, T. M. Maxwell, L. L. Wu, S. C. Hunt, R. R. Williams, and S. C. Elbein, "Dyslipidemias among normoglycemic members of familial NIDDM pedigrees," *Diabetes Care*, vol. 15, no. 10, pp. 1285–1289, 1992.
- [12] W. Tang, Y. Hong, M. A. Province et al., "Familial clustering for features of the metabolic syndrome: the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Family Heart Study," *Diabetes Care*, vol. 29, no. 3, pp. 631–636, 2006.
- [13] A. Malhotra and J. K. Wolford, "Analysis of quantitative lipid traits in the genetics of NIDDM (GENNID) study," *Diabetes*, vol. 54, no. 10, pp. 3007–3014, 2005.
- [14] S. H. Shah, "Gene polymorphisms and susceptibility to coronary artery disease," *Pediatric Blood and Cancer*, vol. 48, no. 7, pp. 738–741, 2007.
- [15] M. I. R. Azambuja, M. Foppa, M. F. Maranhão, and A. C. Achutti, "Impacto econômico dos casos de doença cardiovascular grave no Brasil: uma estimativa baseada em dados secundários," *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, vol. 91, pp. 163–171, 2008.
- [16] N. A. Tritos and C. S. Mantzoros, "Leptin: its role in obesity and beyond," *Diabetologia*, vol. 40, no. 12, pp. 1371–1379, 1997.
- [17] Y. C. Chagnon, W. K. Chung, L. Pérusse, M. Chagnon, R. L. Leibel, and C. Bouchard, "Linkages and associations between the leptin receptor (LEPR) gene and human body composition in the Quebec family study," *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, vol. 23, no. 3, pp. 278–286, 1999.
- [18] T. A. Lakka, T. Rankinen, S. J. Weisnagel et al., "Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and changes in glucose homeostasis in response to regular exercise in nondiabetic individuals: the HERITAGE family study," *Diabetes*, vol. 53, no. 6, pp. 1603–1608, 2004.
- [19] V. S. Mattevi, V. M. Zembrzski, and M. H. Hutz, "Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil," *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, vol. 26, no. 9, pp. 1179–1185, 2002.
- [20] N. D. Quinton, A. J. Lee, R. J. M. Ross, R. Eastell, and A. I. F. Blakemore, "A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women," *Human Genetics*, vol. 108, no. 3, pp. 233–236, 2001.
- [21] R. Rosmond, Y. C. Chagnon, G. Holm et al., "Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 85, no. 9, pp. 3126–3131, 2000.
- [22] N. Yiannakouris, M. Yannakoulia, L. Melistas, J. I. Chan, D. Klimis-Zacas, and C. S. Mantzoros, "The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 86, no. 9, pp. 4434–4439, 2001.
- [23] Y. C. Chagnon, J. H. Wilmore, I. B. Borecki et al., "Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged caucasian males from the HERITAGE family study," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 85, no. 1, pp. 29–34, 2000.
- [24] M. Wauters, I. Mertens, M. Chagnon et al., "Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women," *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, vol. 25, no. 5, pp. 714–720, 2001.
- [25] H.-Y. Woo, H. Park, C.-S. Ki, Y. L. Park, and W. G. Bae, "Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea," *Cancer Letters*, vol. 237, no. 1, pp. 137–142, 2006.
- [26] Y. Zheng, K. Xiang, R. Zhang, W. Jia, J. Lu, and J. Tang, "Association of Gln223Arg variant in leptin receptor gene with metabolic abnormalities and hypertension in type II diabetes mellitus in Shanghai 'Han' population," *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, vol. 38, no. 3, pp. 174–177, 1999.
- [27] P. Gu, W. Jiang, M. Chen et al., "Association of leptin receptor gene polymorphisms and essential hypertension in a Chinese population," *Journal of Endocrinological Investigation*, vol. 35, no. 9, pp. 859–865, 2012.
- [28] IBGE, *CENSO 2010*, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010.
- [29] A. V. Chobanian, G. L. Bakris, H. R. Black et al., "The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the

- JNC 7 report," *The Journal of the American Medical Association*, vol. 289, no. 19, pp. 2560–2572, 2003.
- [30] WHO, *The Use and Interpretation of Anthropometry*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1995.
- [31] A. L. S. Guimarães, A. R. de Sá, J. M. N. Victória et al., "Association of interleukin-1 β polymorphism with recurrent aphthous stomatitis in Brazilian individuals," *Oral Diseases*, vol. 12, no. 6, pp. 580–583, 2006.
- [32] A. L. S. Guimarães, J. D. F. Correia-Silva, A. R. D. Sá et al., "Investigation of functional gene polymorphisms IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α in individuals with recurrent aphthous stomatitis," *Archives of Oral Biology*, vol. 52, no. 3, pp. 268–272, 2007.
- [33] C. C. Ragin, C. Dallal, M. Okobia et al., "Leptin levels and leptin receptor polymorphism frequency in healthy populations," *Infectious Agents and Cancer*, vol. 4, supplement 1, article S13, 2009.
- [34] M. T. Guagnano, M. R. Manigrasso, E. Ballone et al., "Association between serum leptin levels and 24-hour blood pressure in obese women," *Obesity Research*, vol. 11, no. 4, pp. 549–555, 2003.
- [35] G. M. Reaven, H. Lithell, and L. Landsberg, "Hypertension and associated metabolic abnormalities—the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system," *The New England Journal of Medicine*, vol. 334, no. 6, pp. 374–381, 1996.
- [36] K. Itoh, K. Imai, T. Masuda et al., "Relationship between changes in serum leptin levels and blood pressure after weight loss," *Hypertension Research*, vol. 25, no. 6, pp. 881–886, 2002.
- [37] T. G. Pickering and R. B. Devereux, "Ambulatory monitoring of blood pressure as a predictor of cardiovascular risk," *American Heart Journal*, vol. 114, no. 4, pp. 925–928, 1987.