

Universidade Federal do Triângulo Mineiro
Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Mariana Teixeira de Carvalho

Investigação molecular de variantes genéticas do gene *FTO* na obesidade infantil

Uberaba

2017

Mariana Teixeira de Carvalho

Investigação molecular de variantes genéticas do gene *FTO* na obesidade infantil

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marly Aparecida Spadotto Balarin

Uberaba

2017

Mariana Teixeira de Carvalho

Investigação molecular de variantes genéticas do gene *FTO* na obesidade infantil

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Patologia Humana, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

_____ de _____ de _____.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Marly Aparecida Spadotto Balarin - Orientadora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. André Luiz Pedrosa
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof^a. Dr^a. Eny Maria Goloni Bertollo
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Dedico este trabalho aos meus amados pais, família, amigos e todos os professores que me deram conhecimento e empenho, meus gatinhos e ao meu noivo pela ajuda, força, compreensão e, principalmente, pelo amor.

AGRADECIMENTOS

Começo este agradecimento com a minha eterna gratidão pelos meus pais e minha criação, sempre motivada pelo conhecimento e pela liberdade de sonhar. Meus pais queridos, muito obrigada por cada segundo ouvindo a voz de vocês! Isso fez toda a diferença. Agradeço aos meus tios e primos, os de longe e de perto, por cada palavra de motivação e por estarem comigo mesmo quando eu não podia estar. Às minhas irmãs, exemplo de sucesso e amor pela profissão, isso me fez seguir em frente! Aos meus sogros e cunhado, minha família de Uberaba, sempre me apoiando. Meu amor por todos vocês aí em cima é indescritível!

Ao meu amado noivo, Diego, você não imagina o quanto é importante na minha vida e o quanto foi essencial neste momento. Muito obrigada pela sua ajuda, pelo seu amor, compreensão, conselhos.. eu te amo! Aos meus gatinhos, claro, como não falar deles? O olhar, o carinho, o miadinho.. isso me fez contemplar tudo com mais alegria e lutar muito mais por este trabalho. Amo vocês, meus pequenos!

Aos meus amigos de laboratório Richard, Chris, Gusta, Carlos, Elaine, Helen, Zirão, Tayssia, Lisandra, Mari, Alessandra.. obrigada pela amizade! Deixo meu carinho especial para a Sarah e Andrezza, amigas que levarei pelo resto da vida onde estiverem. Obrigada de coração pela ajuda nos momentos difíceis, pelas palavras, pelos abraços, pelos momentos! Todo esse caminho foi menos árduo com vocês ao meu lado.

Agradeço imensamente à minha orientadora Marly e minha co-orientadora Roseane, mulheres guerreiras e que me deram toda a oportunidade de estar aqui. Obrigada pelos ensinamentos! Meus sinceros agradecimentos à professora Mariângela, que sempre me ajuda desde a graduação e agora, no Mestrado, principalmente na análise estatística.

Agradeço as minhas amigas de Araxá, Uberaba, Ribeirão Preto, Macaé e de todos os outros cantos por existirem na minha vida. Não nos falamos todos os dias, mas sei que tenho vocês no pensamento sempre, e a amizade de vocês é muito, muito importante pra mim! Me fizeram ser quem eu sou. Amo vocês!

Agradeço toda a equipe do Ambulatório de Endócrino-Pediatria pela ajuda e disponibilidade! Especialmente à Dra. Heloísa, que me deu todo o alicerce para conversar com os participantes do trabalho, e pela paciência em estar ao meu lado todas as quintas-feiras. Agradeço também a Pós Graduação em Ciências da Saúde,

a UFTM e as instituições de fomento CAPES, CNPQ e FAPEMIG pelo apoio financeiro e pela oportunidade em concretizar este estudo.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

A prevalência da obesidade vem crescendo de forma expressiva no mundo todo, chegando a ser considerada, em muitos lugares, a maior epidemia de saúde pública e a principal causa de morte prematura. É definida como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode prejudicar a saúde. Inúmeros estudos têm avaliado genes e sua associação com a obesidade infantil. O gene *FTO* (*fat mass and obesity associated*) é um dos mais relacionados à obesidade, no qual sua superexpressão está relacionada ao aumento de peso nesta condição, podendo ser modulada por variantes genéticas. Este trabalho tem como objetivos investigar as frequências das variantes genéticas rs9940128, rs8050136, rs9939609 do gene *FTO*, em crianças com sobrepeso e obesidade e verificar associação destas e parâmetros como sexo, histórico de obesidade na família e atividade física com a obesidade infantil. Trata-se de um estudo do tipo caso-controle retrospectivo com 364 indivíduos, dos quais o grupo de estudo compreendeu 186 crianças e adolescentes entre 5 e 19 anos diagnosticadas com sobrepeso ou obesidade. Fizeram parte do grupo controle 178 adultos, os quais não tiveram sobrepeso ou obesidade na infância. Para a avaliação das variantes genéticas foi realizada a técnica de PCR em Tempo Real, PCR alelo-específico e PCR-RFLP. Para comparar as distribuições das frequências alélicas e genotípicas entre os grupos e verificar se as distribuições genotípicas estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), foi utilizado o teste de Qui-Quadrado (χ^2). Para a análise do modelo de herança e dos haplótipos, foi utilizado o programa SNPStats. O modelo de regressão logística múltipla foi utilizado para determinar o efeito das variáveis analisadas e o desenvolvimento de obesidade infantil, incluindo fatores sociodemográficos, sinais clínicos e dados moleculares. O nível de significância considerado foi de 5% ($p \leq 0,05$). A frequência do genótipo heterozigoto foi maior nos grupos estudados para as três variantes genéticas. Na análise de regressão logística, o parâmetro mãe com excesso de peso e presença do alelo A da variante genética rs9940128 foram estatisticamente significativos (0,0225 e 0,0439, respectivamente). Não foi encontrada associação das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T, dos haplótipos, modelos de herança mendeliana e os parâmetros estudados com a obesidade infantil, exceto para mãe com excesso de peso, o que pode conduzir a pesquisas acerca do papel da

herdabilidade nesta doença e no monitoramento familiar de crianças que apresentam excesso de peso.

Palavras-chave: Obesidade infantil. IMC. Gene *FTO*. Variantes genéticas. Haplótipo. rs9940128. rs8050136. rs9939609.

ABSTRACT

The prevalence of obesity has been growing significantly worldwide, and has become, in many places, the largest public health epidemic and the leading cause of premature death. It is defined as an abnormal or excessive accumulation of fat that can be harmful to health. Many studies have evaluated genes and their association with childhood obesity. The *FTO* (*fat mass and obesity associated*) gene is one of the most related to obesity, in which its overexpression is related to weight gain in this condition, and can be modulated by genetic variants. This work aims to investigate the frequencies of genetic variants rs9940128, rs8050136, rs9939609 of *FTO* gene in overweight and obese children and to verify the association of these and parameters such as gender, history of obesity in family and physical activity with childhood obesity. It is a retrospective case-control study with 364 individuals, of which the study group comprised 186 children and adolescents between 5 and 19 years diagnosed as being overweight or obese. A total of 178 adults were included in the control group, who were not overweight or obese in childhood. For the evaluation of the genetic variants, real-time PCR technique, allele-specific PCR and PCR-RFLP were performed. To compare the distributions of allele and genotype frequencies between the groups and to verify if the genotypic distributions were in Hardy-Weinberg equilibrium (EHW), the Chi-Square test (χ^2) was used. For the analysis of the inheritance model and the haplotypes, SNPStats program was used. The multiple logistic regression model was used to determine the effect of variables analyzed and the development of childhood obesity, including sociodemographic factors, clinical signs and molecular data. The significance level considered was 5% ($p \leq 0.05$). The frequency of the heterozygous genotype was higher in the studied groups for the three genetic variants. In the logistic regression analysis, the parameter mother with excess weight and presence of the allele A of the genetic variant rs9940128 were statistically significant (0.0225 and 0.0439, respectively). No association was found between the genetic variants rs9940128 G > A, rs8050136 A > C and rs9939609 A > T, haplotypes, mendelian inheritance models and the parameters studied with childhood obesity, except for overweight mothers, which may lead to research on the role of heritability in this disease and in the family monitoring of children who are overweight.

Keywords: Childhood obesity. BMI. *FTO* gene. Genetic variants. Haplotype.
rs9940128. rs8050136. rs9939609.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Localização do gene <i>FTO</i> no cromossomo 16.....	28
Figura 2 - Localização das variantes genéticas rs9940128, rs8050136 e rs9939609 no <i>íntron</i> 1 do gene <i>FTO</i> e sua proximidade com outros genes (<i>Fts</i> [<i>AKT interacting protein</i>], <i>RPGRIP1L</i> [<i>RPGR-interacting protein 1-like</i>], <i>IRX</i> [<i>Iroquois related homeobox</i>] 3, 5 e 6.....	29
Figura 3 - Gel de poliacrilamida 15% com os produtos de PCR digeridos pela enzima <i>MspI</i> para a variante genética rs9940128 G>A, mostrando os genótipos AA, AG e GG.....	38
Figura 4 - Gel de agarose 2% com os produtos de PCR da variante genética rs9939609 A>T, mostrando os alelos A e T.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de referência para diagnóstico do estado nutricional de acordo com o IMC para a idade (5 a 19 anos).....	20
Tabela 2 - Concentração dos reagentes utilizados e temperatura de hibridização para as variantes genéticas rs9939609 A>T e rs9940128 G>A do gene <i>FTO</i>	34
Tabela 3 - Sequência de <i>primers</i> e tamanho do produto da PCR das variantes genéticas rs9939609 A>T e rs9940128 G>A do gene <i>FTO</i>	35
Tabela 4 - Características epidemiológicas nos grupos obesidade, sobrepeso e controle.....	37
Tabela 5 - Distribuição das frequências genotípicas e alélicas da variante genética rs9940128 G>A do gene <i>FTO</i> em indivíduos com obesidade, sobrepeso e grupo controle.....	38
Tabela 6 - Comparação entre os grupos de estudo e a presença do alelo variante (A) da variante genética rs9940128 G>A.....	39
Tabela 7 - Distribuição das frequências genotípicas e alélicas da variante genética rs8050136 A>C do gene <i>FTO</i> em indivíduos com obesidade, sobrepeso e grupo controle.....	39
Tabela 8 - Comparação entre os grupos de estudo e a presença do alelo variante (C) da variante genética rs8050136 A>C.....	40
Tabela 9 - Distribuição das frequências genotípicas e alélicas da variante genética rs9939609 A>T do gene <i>FTO</i> em indivíduos com obesidade, sobrepeso e grupo controle.....	41
Tabela 10 - Comparação entre os grupos de estudo e a presença do alelo variante (T) da variante genética rs9939609 A>T.....	41
Tabela 11 - Resultados da análise de regressão logística entre os grupos caso (obesidade e sobrepeso) e controle.....	42
Tabela 12 - Modelo de herança para as variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T.....	43
Tabela 13 - Haplótipos e frequência haplotípica das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C, rs9939609 A>T em indivíduos com sobrepeso/obesidade e grupo controle.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

® - *Registered*

°C – Grau Celsius

5-HTTLPR - The Serotonin Transporter Polymorphism

ACE - Angiotensin converting enzyme

CUTL1 - Transcriptional repressor CDP

DHGNA - Doença hepática gordurosa não-alcoólica

DM 2 – *Diabetes mellitus* tipo 2

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

dNTP - Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

FTO – Fat mass and obesity associated

GHSR - Growth hormone secretagogue receptor

gl - Grau de liberdade

GWAS - Genome-wide association study

HC - Hospital de Clínicas

HCl - Ácido clorídrico

HCl – Ácido clorídrico

HIV – *Human immunodeficiency virus*

IC - Intervalo de confiança

ID - Identificação

IMC – Índice de massa corporal

IRX-3 - Iroquois related homeobox 3

Kb - Quilobases

kDa - Kilodalton

kg – Quilograma

LEP - *Leptin*

LEPR - *Leptin receptor*

LEPRB - *Leptin Receptor Long Isoform*

m – Metro

M - Molar

MC4-R – Melanocortin 4 receptor

MG – Minas Gerais

MgCl₂ - Cloreto de magnésio

miliQ - Água ultrapura Milli-Q

mL - Mililitro

mL – Mililitro

NMU - Neuromedin U

OR - Odds ratio

pb - Pares de base

pH - Potencial hidrogeniônico

pH – Potencial hidrogeniônico

PPARG - Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma

RBL2 - Retinoblastoma-like protein 2

RNA_m - RNA mensageiro

RPGRIP1L - RPGRIP1 like

rpm - Rotações por minuto

SNP - Single nucleotide polymorphism

Taq - *Thermus aquaticus*

TE - Tris-EDTA

UFTM - Universidade Federal do Triângulo Mineiro

WHO – *World Health Organization*

μL – Microlitro

χ²- Qui quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 DESENVOLVIMENTO.....	19
2.1 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1.1 Obesidade infantil.....	20
2.1.2 Fatores não genéticos associados à obesidade.....	23
2.1.3 Fatores genéticos associados à obesidade.....	24
2.1.4 Justificativa.....	30
2.1.5 Objetivos.....	31
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.2.1 Caracterização da amostra.....	32
2.2.2 Extração de DNA.....	33
2.2.3 Genotipagem.....	34
2.2.3.1 PCR em tempo real.....	34
2.2.3.2 PCR alelo-específico e PCR-RFLP (polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição).....	34
2.2.4 Análise estatística.....	36
2.2.5 Aspectos éticos.....	36
2.3 RESULTADOS.....	37
2.3.1 Caracterização da amostra.....	37
2.3.2 Análise da variante genética rs9940128 G>A.....	37
2.3.3 Análise da variante genética rs8050136 A>C.....	39
2.3.4 Análise da variante genética rs9939609 A>T.....	40
2.3.5 Análise de regressão logística para as variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C, rs9930609 A>T do gene <i>FTO</i>..	41

2.3.6 Análise de padrão de herança das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T do gene <i>FTO</i>	43
2.3.7 Análise de haplótipos.....	44
2.4 DISCUSSÃO.....	45
3 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55
APÊNDICE A - Questionário.....	70
APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para grupo controle.....	72
APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para maiores de idade.....	73
APÊNDICE D - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para menores de idade.....	74
ANEXO A - Parecer Cosubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)/UFTM.....	75

1 INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade vem crescendo de forma expressiva no mundo, chegando a ser considerada, em muitos lugares, a maior epidemia de saúde pública e a principal causa de morte prematura (TALMOR; DUMPHY, 2015). É determinada clinicamente por Spigelman e Flier (2001) como “um estado de aumento do peso corporal, mais especificamente do tecido adiposo, em dimensões suficientes para gerar consequências adversas à saúde”. Para a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016), a obesidade é definida como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode prejudicar a saúde.

O índice de massa corporal (IMC) é a razão entre o peso corporal (em kg) e o quadrado da altura (em m) e é universalmente utilizado para definir o grau de obesidade. Para adultos, um IMC de 25,0 a 29,9 kg/m² é definido como sobrepeso e de 30 kg/m² ou mais como obeso (MELDRUM; MORRIS; GAMBONE, 2017; OMS, 2016). Para a obesidade infantil, são utilizadas as curvas americanas de IMC da OMS (2007), específicas para cada sexo e grupo etário (até 5 anos e 5-19 anos), que consideram como diagnóstico de sobrepeso e obesidade os percentis iguais ou acima de 85 e 97, respectivamente.

Crianças obesas possuem um alto risco de desenvolver inúmeras comorbidades, vistas anteriormente apenas em adultos. Vários estudos indicam associação entre a obesidade infantil e *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), hipertensão arterial, dislipidemia, doenças cardiovasculares e hepáticas, entre outras (EROL et al., 2016; KELISHADI; AZIZI-SOLEIMAN, 2014; KELLY et al., 2013; NIKOLOPOULOU; KADOGLU, 2012; ZHANG; DU; MA, 2017).

A obesidade é uma doença multifatorial com alta herdabilidade (50-75%) que ainda é maior nos casos de início precoce (LLEWELLYN et al., 2013). A predisposição ou suscetibilidade genética como fatores condicionantes para este distúrbio atuam em interação com fatores ambientais relacionados ao estilo de vida, como hábitos alimentares e atividade física (MARQUES-LOPES, 2004; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, 2007; MELDRUM; MORRIS; GAMBONE, 2017).

Estudos recentes têm avaliado genes e sua relação com a obesidade infantil (BORDONI et al., 2017; GARCÍA-SOLÍS et al., 2016; TANG et al., 2017; VOLLBACH et al., 2017). O gene *FTO* (*Fat mass and obesity associated*) é o mais estudado na obesidade, e sua expressão elevada, que pode ser modulada por variantes

genéticas, está relacionada ao metabolismo dos adipócitos e, portanto, ao aumento de peso (CASTELLINI et al., 2017; CHUENTA et al., 2015; PRZELIORZ-PYSZCZEK; REGULSKA-IIOW, 2017).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 REVISÃO DA LITERATURA

A obesidade é provavelmente o mais antigo distúrbio metabólico descrito, e o crescente aumento desta condição leva ao surgimento de múltiplas comorbidades graves, como DM2 e doenças cardiovasculares (KELISHADI; AZIZI-SOLEIMAN, 2014).

Trata-se de uma doença complexa de caráter multifatorial, ou seja, há uma interação entre componentes genéticos e ambientais, levando ao excesso de armazenamento de moléculas ricas em energia na forma de gordura corporal (GUÍZAR-MENDOZA et al., 2005; POPKIN, 2006) e, como tal, apresenta-se como um grande desafio para os pesquisadores compreender os mecanismos envolvidos na sua fisiopatologia (ALBUQUERQUE et al., 2015; VELLOSO, 2006).

A incidência da obesidade aumenta a cada dia em todas as etnias e sexos, atingindo, principalmente, a população de 25 a 44 anos (OMS, 2002, 2005, 2010). Dados de 2014 indicaram que mais de 1,9 bilhão de adultos em todo o mundo estava acima do peso e mais de 600 milhões eram obesos, e a previsão para 2015 foi ainda mais pessimista, indicando 2,3 bilhões de pessoas com excesso de peso e 700 milhões de obesos, o que evidencia um aumento de 75% nos casos de obesidade em apenas 10 anos (OMS, 2016).

Damiani, Damiani e Oliveira (2002) mostraram que nos Estados Unidos da América (EUA) o número de obesos duplicou entre os anos de 1960 e 2002, chegando a atingir entre 15% a 25% das crianças e adolescentes. Em 2014 já era observado que cerca de um terço das crianças e adolescentes norte-americanos estava com sobrepeso ou obesidade, e 17,7% das crianças de 6 a 11 anos e 20,5% dos adolescentes de 12 a 19 anos já eram considerados obesos (OGDEN et al., 2014). Neste mesmo ano, os EUA ocupavam a 11^a (para sexo masculino) e 24^a posição (sexo feminino) no ranking da OMS como país com o maior número de obesos e o Brasil estava na 84^a posição, considerando o sexo masculino e 78^a posição, considerando o sexo feminino (OMS, 2016).

O IMC, estimado pela relação entre o peso e altura, expresso em kg/m², é um importante avaliador da obesidade na prática clínica (ANJOS, 1992; PELEGRINI et al., 2015). O indivíduo é considerado obeso quando seu IMC é igual ou superior a 30kg/m², sendo o nível de gravidade caracterizado de acordo com o risco de outras

morbidades associadas. Assim, um IMC entre 30-34,9kg/m² denomina-se obesidade grau I, entre 35-39,9kg/m² obesidade II e entre 40- 44,9kg/m² obesidade III (OMS, 2002, 2005, 2010).

Durante o desenvolvimento da criança, o IMC modifica-se consideravelmente com a idade, eleva-se durante a primeira infância, cai no período pré-escolar e escolar, e aumenta novamente na adolescência e nos primeiros anos da vida adulta (SOUSA et al., 2008). Por isso, uma proposta para a avaliação do estado nutricional infantil são as Tabelas com os valores de IMC distribuídos em percentis e escores Z para os índices: peso/idade (5 a 10 anos), estatura/idade (5 a 19 anos) e IMC/idade (5 a 19 anos) (OMS, 2007), como mostrado na Tabela 1 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Tabela 1 – Valores de referência para diagnóstico do estado nutricional de acordo com o IMC para a idade (5 a 19 anos).

Percentil	Escore	Diagnóstico Nutricional
≤ 0,1	< z - 3	Magreza acentuada
≥ 0,1 e < 3	≥ z - 3 e < - 2	Magreza
≥ 3 e < 85	≥ z - 2 e < + 1	Eutrofia
≥ 85 e < 97	≥ z + 1 e < + 2	Sobrepeso
≥ 97 e ≤ 99,9	≥ z + 2 e ≤ + 3	Obesidade
< 99,9	> z + 3	Obesidade grave

Fonte: Adaptado de Caderno de Atenção Básica em Obesidade. Ministério da Saúde, 2009.

2.1.1 Obesidade infantil

As tendências de transição nutricional no século atual nos diferentes países são uma dieta mais rica em gorduras saturadas, açúcares e alimentos refinados, e reduzida em carboidratos complexos e fibras (SHAO et al., 2017), conhecida como dieta ocidental (MONTEIRO et al., 1995). No Brasil, Wang e colaboradores (2002) já relatavam que essa transição ao longo do tempo influencia na diminuição progressiva da desnutrição e no aumento da obesidade.

A prevalência da obesidade está crescendo consideravelmente na infância e na adolescência (KUMAR; KELLY, 2017), e estudos das décadas de 80 e 90 já indicavam que cerca de 50% das crianças obesas aos seis meses de idade e 80% das crianças obesas aos cinco anos de idade permaneceriam obesas até a idade adulta (GORTMAKER et al., 1987; TROIANO et al., 1995).

Os principais e mais preocupantes riscos para a criança com obesidade são a elevação dos triglicerídeos, do colesterol, a hipertensão, as alterações ortopédicas e

respiratórias, propiciando, na vida adulta, o desenvolvimento de doenças coronárias, DM2 e aterosclerose, que pode se iniciar na infância (LAKSHMAN; ELKS; ONG, 2012; MELLO; LUFT; MEYER, 2004). Desta forma, a preocupação sobre prevenção, diagnóstico e tratamento da obesidade têm-se voltado mais para a infância (BOMBERG et al., 2017), e programas de educação alimentar e de atividades físicas têm buscado modificar estes hábitos alimentares ricos em gorduras e açúcares, diminuindo a quantidade e/ou substituindo a dieta por alimentos mais saudáveis, principalmente introduzindo alimentos ricos em fibras que, em quantidades ideais, podem ajudar no combate a obesidade (BOMBERG et al., 2017).

Um problema frequentemente visto na obesidade infantil é o distúrbio respiratório associado ao sono, mais comumente observado na obesidade grave. O termo refere-se a um amplo espectro de condições relacionadas ao sono, incluindo aumento da resistência ao fluxo de ar através das vias aéreas superiores, ronco pesado, redução do fluxo de ar (hiponeia) e cessação da respiração (apneia) (RILEY; SANTIAGO; EDELMAN, 1976). Inúmeras pesquisas epidemiológicas com diferentes populações estudam e relacionam a curta duração do tempo de sono com o aumento do IMC (BONNET; ARAND, 1995; GUPTA et al., 2002; HASLER et al., 2004; KOHATSU et al., 2006; KRIPKE et al., 2002; SEKINE et al., 2002; TAHERI et al., 2004; VIOQUE; TORRES; QUILES, 2000; VORONA et al., 2005). Outros estudos indicam também uma associação entre sobrepeso infantil e asma (CHINN; RONA, 2001; GENNUSO et al., 1998; GRIFFITHS et al., 2010; LUDER; MELNIK; DIMAIO, 1998; RODRIGUEZ et al., 2002).

A doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) também é uma condição cada vez mais relacionada à obesidade infantil e de progressão lenta com manifestação clínica na idade adulta (CAVANILLES et al., 2007; LOBSTEIN; BAUR; UAUY, 2004; PADILHA et al., 2010; PAPANDREOU; ROUSSO; MAVROMICHALIS, 2007; SCHWIMMER et al., 2003). A DHGNA é uma complicação que vai desde a esteatose, relativamente benigna, até uma infiltração de gordura com inflamação (NEUSCHWANDER-TETRI; CALDWELL, 2003). Mathur, Das e Aroras (2007) afirmaram que a alta adiposidade visceral pode elevar o grau da lesão hepática, contribuindo para quadros mais graves, como a cirrose.

A menarca precoce é outra condição que afeta as meninas obesas, além do risco aumentado para o desenvolvimento do câncer de mama e do sistema reprodutivo (NELSON; FLEMING, 2007). Já em meninos nota-se, na maioria das

vezes, um atraso na puberdade (WANG, 2002). As diferenças também são refletidas na mudança da composição corporal que ocorre durante a puberdade, quando as meninas tendem a aumentar a massa gorda como resultado da puberdade, enquanto os meninos tendem a aumentar o músculo e, conseqüentemente, massa magra (LOBSTEIN; BAUR; UAUY, 2004).

Outra condição, o DM2, previamente observado apenas em adultos, representa uma consequência particularmente alarmante da epidemia de obesidade em crianças e adolescentes, sendo a resistência à insulina uma das principais causas desta condição clínica (IRBY et al., 2010). A atividade física, por exemplo, melhora a resistência insulínica em jovens obesos e a perda de peso melhora a sensibilidade à insulina e diminui a hiperinsulinemia (INCLEDON; WAKE; HAY, 2011).

O início precoce do desenvolvimento do DM2 leva ao aparecimento de complicações que incluem neuropatia progressiva, retinopatia, nefropatia e doença cardiovascular aterosclerótica, predispondo a acidente vascular encefálico, infarto do miocárdio e, em alguns casos, morte súbita (WELLS, 2017). Além do seu impacto no bem-estar físico, é enorme o impacto econômico, social e psicológico dessas complicações (JOHAR; BERNSTEIN, 2017).

A hipertensão é uma condição associada também à obesidade, visto que 30% das crianças obesas sofrem de hipertensão arterial (KELLY et al., 2013) e são mais propensas a ter maior peso corporal na idade adulta (JUONALA et al., 2011). Entre os adolescentes, pesquisas mostram que mais da metade dos indivíduos com pressão arterial elevada também apresenta sobrepeso significativo (FREEDMAN et al., 2007; HE et al., 2002). A detecção e prevenção da hipertensão na população pediátrica e seu tratamento precoce contribuem para a redução do alto risco de morbidade na idade adulta (WILLIG et al., 2010).

A aterosclerose, caracterizada por um depósito de colesterol na camada íntima das artérias, formando estrias de gordura e levando a problemas cardiovasculares, também pode se iniciar na infância. Essas estrias nas artérias coronarianas da criança podem, algumas vezes, progredir para lesões ateroscleróticas avançadas em poucas décadas, sendo este processo reversível no início do seu desenvolvimento (FONTANIVE; COSTA; SOARES, 2002; WILLIAMS; GULLI; DECKELBAUM, 2001; RODRIGUES et al., 2013).

Ligações entre o ganho de peso na infância e um subsequente aumento dos fatores de risco cardiovasculares sugerem que o conjunto hipertensão, hipertrigliceridemia, baixo colesterol HDL e hiperinsulinemia, às vezes referido como a síndrome metabólica, é comum entre os adultos obesos que também eram obesos quando crianças (FREEDMAN; SHERRY, 2009).

2.1.2 Fatores não genéticos associados à obesidade

O peso corporal é regulado por inúmeros mecanismos fisiológicos que mantêm o equilíbrio entre a ingestão e o gasto de energia (LUSTIG, 2001). Assim, qualquer fator que aumente a ingestão de energia ou diminua o gasto desta, mesmo que em pequena quantidade, causará obesidade a longo prazo (EBBELING; PAWLAK; LUDWIG, 2002).

Além do gasto metabólico das atividades diárias, o metabolismo de repouso também pode influenciar no aparecimento da obesidade. O aumento da atividade física, acompanhada da diminuição da ingestão alimentar, pode mudar esse quadro, no qual o indivíduo tende a escolher alimentos menos calóricos e, conseqüentemente, emagrece (DENNISON; ERB; JENKINS, 2002; SCHEELE; NIELSEN, 2017). A atividade física é importante na composição corporal por aumentar a massa óssea e prevenir a osteoporose e a obesidade (MATSUDO; PASCHOAL; AMANCIO, 2003; REILLY; MARTIN; HUGHES, 2017).

Dificuldade de controlar a alimentação é um fator de risco para a obesidade, tanto na infância quanto na vida adulta. Hábitos alimentares como não tomar café da manhã, jantar com grande quantidade calórica, ingerir alimentos e preparações em grandes porções, consistem em uma inadequada prática de alimentação que é prejudicial e indutora de obesidade (GILLMAN et al., 2000; MEAD et al., 2016).

Os pais influenciam muito na qualidade alimentar das crianças. Na infância é recomendado que os pais forneçam às crianças refeições e lanches saudáveis, balanceados, com nutrientes adequados e que permitam à elas escolher a qualidade e a quantidade que desejam comer desses alimentos saudáveis (FONTANIVE; COSTA; SOARES, 2002; LAW et al., 2014).

2.1.3 Fatores genéticos associados à obesidade

Estudos realizados entre 1980 e 1990 com gêmeos e crianças adotadas indicaram que 80% da variação do IMC é atribuída a fatores genéticos (BOUCHARD et al., 1990, 1994). Outras análises baseadas na composição corporal de gêmeos criados separadamente e na comparação entre crianças adotadas com pais biológicos e com pais adotivos também sugerem considerável influência genética sobre a distribuição da gordura corpórea (BARNES et al., 2007).

Diversas estratégias têm sido utilizadas para levantar os determinantes genéticos da obesidade, como os estudos de associação, estudos de associação genômica ampla (GWAS) e de variantes genéticas, formas monogênicas de obesidade e síndromes genéticas com anomalias do desenvolvimento associadas à obesidade (APALASAMY; MOHAMED, 2015; KOUSTA et al., 2009; RAO; LAL; GIRIDHARAN, 2014; ROLA; FERREIRA, 2008).

A identificação de genes associados à obesidade foi, durante anos, dificultada devido a uma compreensão ainda limitada do genoma humano (LOSS; GILES, 2014). Atualmente, são conhecidos mais de 600 genes envolvidos no controle do peso corporal e desenvolvimento da obesidade. A maioria desses genes possui mecanismos de regulação gênica associados a fatores ambientais, como presença de determinados hormônios e dieta rica em lipoproteínas (APALASAMY; MOHAMED, 2015).

Martínez-Hernández (2007) mostrou que a obesidade possui uma taxa de herdabilidade significativa, na qual indivíduos com parentes obesos têm de 30% a 75% de probabilidade de apresentar o mesmo fenótipo.

Inúmeros estudos têm encontrado associação entre genes que codificam proteínas, como serotonina, grelina, leptina, neuromedina, entre outras, intimamente relacionadas ao aumento de peso (CUMMINGS, 2006; FOSTER-SCHUBERT; CUMMINGS, 2006; FRAYLING et al., 2007; HANADA et al., 2004; MIRANDA et al., 2017; OTTAWAY et al., 2015; SATO et al., 2007; SMEMO et al., 2014; ZORRILLA et al., 2006).

A serotonina é um importante neurotransmissor químico que pode ser amplamente encontrado no organismo e está associado a um grande número de condições, incluindo a obesidade (WURTMAN; WURTMAN, 1995). Alguns estudos relatam uma relação inversa entre o nível de sinalização de serotonina cerebral e

ingestão de alimentos, onde a sinalização de serotonina cerebral é aumentada quando a ingestão de alimentos é reduzida, e vice-versa (HALFORD et al., 2007; HEISLER et al., 2006). Alterações na síntese de serotonina endógena, biodisponibilidade e metabolismo fornecem evidências importantes para o papel da serotonina endógena no controle da ingestão de alimentos e peso corporal (MIRANDA et al., 2017).

O transportador da serotonina possui uma variante genética denominada *serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR)* localizada na região reguladora (cromossomo 17q11.1-q12) (HEILS et al., 1996), consistindo em sequências repetitivas ricas em guanina e citosina. Uma inserção ou deleção nessa região cria um alelo longo ou curto, resultando em uma abordagem bialélica que pode alterar a expressão da proteína (SOOKOIAN et al., 2007). Alguns estudos investigaram a associação desta variante com a obesidade em adolescentes e adultos, e confirmaram a associação entre o alelo curto de *5-HTTLPR* e um maior IMC (FUEMMELER et al., 2008; SOOKOIAN et al., 2007).

A Neuromedina U (NMU) é um neuropeptídeo expresso principalmente no cérebro, tecido adiposo e trato gastroentérico, desempenhando papéis importantes na regulação do apetite, homeostase de energia, secreção gástrica, contração do músculo liso e remodelação óssea, bem como na progressão de diferentes tipos de câncer (MARTINEZ; O'DRISCOLL, 2015).

Algumas evidências sugerem uma forte influência da NMU na regulação do comportamento alimentar e adiposidade. Estudos envolvendo modelos de camundongos transgênicos mostraram que o grupo *knockout* para este neuropeptídeo era hiperfágico e tinha um gasto de energia diminuído, resultando em aumento da adiposidade, diminuição da sensibilidade à insulina e aumento da massa óssea (HANADA et al., 2004; SATO et al., 2007).

A leptina, descoberta em 1994, é uma citocina de 16 kDa produzida predominantemente pelo tecido adiposo (ZHANG et al., 1994). Sua liberação e circulação na corrente sanguínea ocorre proporcionalmente à massa de gordura corporal (FRIEDMAN; HALAAS, 1998). Consequentemente, os níveis de leptina transmitem informações sobre as reservas de energia do corpo aos centros que regulam a homeostase energética (CONSIDINE; CARO, 1996; FREDERICH et al., 1995; HAVEL et al., 1996). O aumento dos depósitos adiposos, que estão associados ao balanço energético positivo, leva à produção de leptina e seus níveis

circulantes, desencadeando uma resposta para reduzir a alimentação e promover o gasto energético. Inversamente, uma queda nos níveis circulantes de leptina, associada ao balanço energético negativo no corpo, desencadeia um estímulo para comer e conservar energia (DHILLON et al., 2006; LEINNINGER et al., 2011).

A obesidade está associada à resistência à leptina, um fenômeno que é semelhante à resistência à insulina em pacientes com DM2 (FREDERICH et al., 1995). A resistência à leptina está associada a níveis elevados de leptina em circulação, bem como à incapacidade da leptina exógena de diminuir a ingestão de alimentos e, conseqüentemente, o peso corporal (OTTAWAY et al., 2015). Em estudos clínicos, mesmo os indivíduos com obesidade sentem muita fome em resposta a uma perda de peso moderada (10%) e a administração de leptina, por exemplo, pode diminuir esta fome (ROSENBAUM et al., 2002).

A leptina liga e ativa os receptores de leptina que são codificados por um gene específico conhecido como *LEPR* (*Receptor de Leptina*), localizado no cromossomo 1 (1p31.3). A proteína LEPR é o principal responsável pela sinalização de leptina e parece mediar a maioria das ações fisiológicas da leptina no organismo. A isoforma LEPRB é expressa em níveis elevados em áreas do cérebro envolvidas na regulação da alimentação e do gasto energético e, no hipotálamo, em um subconjunto de neurônios em núcleos que são importantes para a regulação metabólica (SCOTT et al., 2009). As seis isoformas da LEPR pertencem à glicoproteína 130 (gp130) da família de citocinas e, portanto, qualquer mutação nos genes *LEP* (7q32.1) e *LEPR* tem uma grande influência sobre o metabolismo, o que pode levar à obesidade (WASIM et al., 2016).

Os receptores de melanocortina (MCRs) compreendem uma família de cinco receptores acoplados às proteínas de classe A e G, designados MC1R-MC5R, com diversas funções fisiológicas. Os MCRs são encontrados em cordados e são considerados como tendo evoluído a partir de um único receptor ancestral, possivelmente correspondendo o mais próximo de MC4-R (DORES, 2013).

Variantes genéticas próximas ao loco do gene *MC4-R* (18q21.32) estão associadas com adiposidade, peso corporal, risco de obesidade e resistência à insulina em nível populacional (CHAMBERS et al., 2008). A função do gene *MC4-R* também se expandiu nos últimos anos e o envolvimento na regulação autonômica da termogênese e da glicemia (BERGLUND et al., 2014), a regulação do controle

simpático e parassimpático da pressão arterial (SOHN et al., 2013) e até anedonia (perda da capacidade se sentir prazer) (LIM et al., 2012) já foram descritos.

A grelina foi identificada em 1999 como um ligante endógeno do estimulador de secreção do receptor do hormônio do crescimento (GHSR) a partir de amostras de estômago de ratos (KOJIMA et al., 1999). Posteriormente, a associação entre a grelina e a ingestão de alimentos, adiposidade e regulação do metabolismo rapidamente tornou-se o foco principal das pesquisas relacionadas à função da grelina (LÓPEZ et al., 2008; MÜLLER et al., 2015; PEINO et al., 2000; SEOANE et al., 2000; THEANDER-CARRILO, 2006). Contudo, as ações pleiotrópicas da grelina têm relacionado este hormônio a diferentes processos fisiológicos. A grelina foi considerada como alvo para tratar a obesidade (CUMMINGS, 2006; FOSTER-SCHUBERT; CUMMINGS, 2006; ZORRILLA et al., 2006) e desordens metabólicas associadas à caquexia (grau extremo de enfraquecimento muscular) e sarcopenia (perda de massa e força na musculatura esquelética) (ANKER et al., 2012; LAINSCAK et al., 2012; MÜLLER et al., 2010).

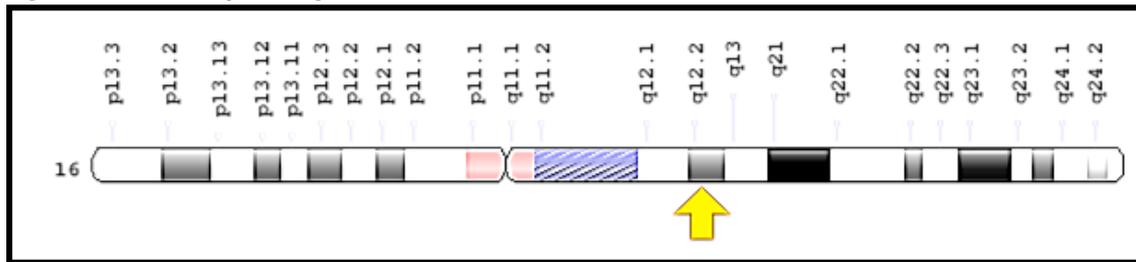
A grelina desempenha um papel importante na estimulação da ingestão de alimentos e regulação a longo prazo do peso corporal (NAKAZATO et al., 2001). As concentrações plasmáticas de grelina aumentam com o jejum e diminuem pós-prandialmente, sugerindo um papel fisiológico para a grelina no início da refeição em seres humanos (CUMMINGS et al., 2001; YUKAWA et al., 2006). Ela tem uma relação inversa com o IMC: é super-regulada em estados subnutridos, como anorexia nervosa, e é subregulada em estados de balanço energético positivo, como a obesidade (OTTO et al., 2001, 2005; TSCHÖP et al., 2001).

Outro forte candidato para a adiposidade humana é o gene *IRX-3* (*Iroquois related homeobox 3*), localizado no cromossomo 16 (16q12.2) a 500 Kb de distância do gene *FTO* (SPEAKMAN, 2015). Seu papel foi comprovado num modelo de camundongo *knockout* para o gene *IRX-3* no qual observou-se uma diminuição na sua massa corporal em cerca de 25-30%. Vale ressaltar que a expressão do gene *FTO* não foi alterada no hipotálamo ou tecido adiposo branco nestes indivíduos *knockout*, mas que, quando relacionados com variantes do primeiro *íntron* do gene *FTO*, os níveis de expressão de *IRX-3* são regulados através da proteína repressora do domínio interativo 5B (ARID5B), rico em adenina e timina, em células precursoras de adipócitos, conduzindo à formação de adipócitos beges (apresentam propriedades de adipócitos marrons, ou seja, dissipam energia) ou brancos

(presentes em maior quantidade e estocam energia). Este trabalho também concluiu que os amplos padrões de expressão do gene *FTO* são regulados principalmente por elementos próximos ao seu promotor, e que o gene *IRX3* é dotado de um extenso circuito cisregulatório que se estende ao gene *FTO* (SMEMO et al., 2014).

Pesquisadores britânicos descrevem que o gene *FTO*, localizado no cromossomo 16 (16q12.2) (Figura 1), está intimamente associado com o controle de índice de massa corporal, ainda que seu papel na homeostase energética e nas vias de sinalização não seja completamente compreendido (BARNES et al., 2007; DOAEI et al., 2017). Este gene foi o primeiro associado à obesidade identificado por meio de estudos genômicos, respondendo às variedades de graus de obesidade durante toda a vida e em diversas ascendências (FRAYLING et al., 2007; LU; LOSS, 2013; SCUTERI et al., 2007).

Figura 1 - Localização do gene *FTO* no cromossomo 16.



Fonte: Retirado de <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/FTO#location>

O papel do gene *FTO* no mecanismo fisiológico da obesidade se dá por meio de modificações no equilíbrio energético como resultado da alteração do nível de expressão de RNAm no hipotálamo, contribuindo para a regulação da taxa metabólica global, gasto energético, homeostase energética (HARBON et al., 2014), tamanho corporal e acúmulo de gordura corporal (LABAYEN et al., 2011; LEIN et al., 2007; STRATIGOPOULOS et al., 2008; TIMPSON et al., 2008).

Os SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) deste gene em regiões não codificantes podem afetar o processamento de RNAm, interromper o início e fim da transcrição e alterar a estabilidade e o impacto da tradução nas sequências promotoras, potenciadoras e silenciadoras. Um SNP no local de ligação do fator de transcrição pode aumentar ou diminuir a ligação destes fatores, levando a expressão do alelo variante deste gene (CHORLEY et al., 2008).

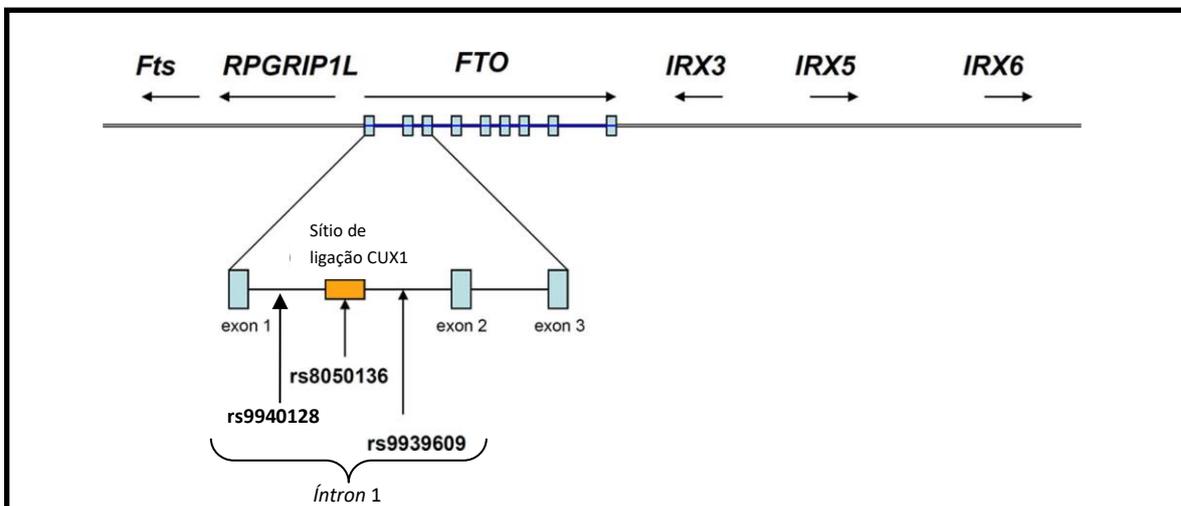
Merkestein e colaboradores (2015) relataram que o gene *FTO* regula a adipogênese e, assim, influencia no desenvolvimento de massa gorda e aumento do

peso corporal. A atividade elevada da proteína aumenta a adipogênese, enquanto que a diminuição inibe a formação de adipócitos, tanto em fibroblastos embrionários quanto em pré-adipócitos primários de camundongos geneticamente modificados. Além disso, a alimentação rica em gordura em camundongos que superexpressam este gene induziu uma hiperplasia em adipócitos.

Inúmeros estudos com adultos e crianças de várias populações europeias (ATTAOUA et al., 2009; DINA et al., 2007; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al., 2009; JONSSON et al., 2009; PEETERS et al., 2008; SCUTERI et al., 2007), asiáticas (CHA et al., 2008, CHANG et al., 2008) e africanas (GRANT et al., 2008), relataram associações de variantes genéticas do *íntron 1* do gene *FTO* com a obesidade, aumento da circunferência do quadril, relação cintura/quadril e peso corporal.

A Figura 2 mostra a localização das variantes genéticas rs9940128, rs8050136 e rs9939609 no primeiro *íntron* do gene *FTO*, bem como a proximidade com outros genes relacionados à obesidade.

Figura 2 – Localização das variantes genéticas rs9940128, rs8050136 e rs9939609 no *íntron 1* do gene *FTO* e sua proximidade com outros genes (*Fts* [*AKT interacting protein*], *RPGRIP1L* [*RPGR-interacting protein 1-like*], *IRX* [*Iroquois related homeobox*] 3, 5 e 6).



Fonte: Adaptado de Stratigopoulos et al., 2008.

A variante genética rs9939609 possui associação com a obesidade na variação de IMC tanto em adulto quanto infantil, no qual seu alelo ancestral A está associado a um aumento de 31% de risco de desenvolver obesidade (FRAYLING et al., 2007). Labayen e colaboradores (2011), em um estudo com adolescentes europeus, mostraram que o alelo A desta variante genética também está associado

a níveis elevados de leptina sérica, independente de fatores como a adiposidade, por exemplo, indicando ter esta proteína forte relação com o gene *FTO*.

Stratigopoulous e colaboradores (2008) descreveram que o SNP rs8050136 está em uma região reguladora que é um sítio de ligação *cut-like homeobox 1* (*CUTL1*) e que o alelo ancestral A está associado a um menor IMC, preferencialmente quando se liga ao *CUTL1* no DNA dos fibroblastos em humanos, diminuindo a expressão do gene *FTO*. Klimentidis e colaboradores (2011), em um estudo com crianças de várias etnias, porém, indicaram que o alelo variante C confere proteção contra o aumento de IMC e circunferência da cintura, bem como outros estudos (DWIVEDI et al., 2012; GRANT et al., 2008).

Em relação ao SNP rs9940128, Hinney e colaboradores (2007) e Hotta e colaboradores (2008) encontraram associação entre o alelo A desta variante genética e obesidade de início precoce em crianças/adolescentes e em adultos japoneses, respectivamente. Já Ramya e colaboradores (2011) mostraram que o alelo G está associado ao desenvolvimento de DM2 em adultos sul indianos.

2.1.4 Justificativa

O gene *FTO* está envolvido no controle do IMC, portanto desempenha papéis no metabolismo dos adipócitos humanos. Mesmo assim, ainda é pouco compreendido seu papel específico na homeostase energética e nas vias de sinalização, havendo uma necessidade de estudos mais aprofundados sobre este gene e sua relação com a obesidade infantil.

Com a obesidade infantil se tornando cada vez mais frequente no mundo e, sendo um fator de risco para várias outras doenças, como diabetes e hipertensão, a realização de um estudo para investigação de fatores genéticos associados à obesidade se faz extremamente necessária, sabendo que vários genes têm forte influência sobre esta condição.

Os progressos no conhecimento da genética molecular, a redução dos custos e a simplificação e praticidade dos métodos de genotipagem têm levado à incorporação de análises de variantes genéticas que ajudam na identificação e associação de marcadores com várias condições clínicas. As oportunidades e recursos criados são ainda maiores no estudo de genes candidatos, que no presente estudo, estão relacionados diretamente com o metabolismo da gordura e os riscos

de se tornar obeso, como é o caso do gene *FTO*. A região do primeiro *ítron* do gene *FTO* contém inúmeras variantes genéticas que modulam a expressão deste, como é o caso das variantes genéticas rs9940128, rs8050136 e rs9939609. Portanto, é de fundamental importância identificar variantes genéticas associadas à obesidade infantil, doença cada vez mais frequente na população pediátrica.

2.1.5 Objetivos

1. Investigar as frequências das variantes genéticas do gene *FTO* rs9940128, rs8050136, rs9939609, em crianças com sobrepeso e obesidade e em adultos sem obesidade infantil;
2. Analisar a associação destas variantes genéticas com os fatores de risco para a doença, como sexo feminino, histórico de obesidade na família e prática de atividade física;
3. Comparar a frequência dos haplótipos das variantes genéticas rs9940128, rs8050136, rs9939609 do gene *FTO*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Caracterização da amostra

Trata-se de um estudo do tipo caso-controle retrospectivo com 364 indivíduos, dos quais o grupo de estudo compreendeu 186 crianças e adolescentes entre cinco e 19 anos diagnosticadas com sobrepeso ou obesidade, divididas em dois grupos, sem qualquer doença relacionada ao aumento de peso (como problemas de tireóide, DM2, entre outras), atendidas no Ambulatório de Endócrino Pediatria do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal do Triângulo (UFTM) em Uberaba, Minas Gerais. De acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (2006), a obesidade infantil inclui crianças e adolescentes na faixa etária de 0 a 19 anos. Para as idades de 5-19 anos, são utilizadas curvas de IMC/idade para se determinar o percentil e estado nutricional do indivíduo, o que foi considerado também no presente estudo. A faixa etária das crianças menores que cinco anos não foi incluída no grupo de caso devido a outros fatores não genéticos presentes que podem alterar o peso do indivíduo (que oscila com frequência), como amamentação e escolha dos alimentos. Fizeram parte do grupo controle 178 adultos, os quais não tiveram sobrepeso ou obesidade, autorrelatado, entre seus cinco e 19 anos e sem histórico de qualquer doença relacionada a aumento ou diminuição de gordura corporal. Os adultos foram escolhidos como grupo controle pelo fato de não ter sido observado sobrepeso ou obesidade durante toda sua infância e adolescência.

Os participantes da pesquisa foram submetidos à anamnese realizada por meio de questionário que inclui dados como nome, data de nascimento, sexo, idade, peso, altura, pai e mãe obesos, casos de obesidade na família e prática de atividade física (APÊNDICE A) e, posteriormente, completado com a leitura sistemática do prontuário.

De cada participante foram coletados 10 mL de sangue periférico, por venopunção, em tubos de coleta a vácuo e estéril (BD Vacutainer[®]), com EDTA. Os tubos foram levados diretamente para o Laboratório de Citogenética e Genética Molecular Humana da Disciplina de Genética-ICBN da UFTM, onde o material foi processado.

2.2.2 Extração de DNA

A extração de DNA genômico foi realizada através do método de fenol clorofórmio (SAMBROOK; FRITSCHI; MANIATIS, 1989). Para ocorrer a lise das células, o sangue de cada participante foi colocado em um tubo cônico de 50mL e, posteriormente, foi adicionada uma solução de lise celular (TE 20:5 - Tris HCL 20mM, EDTA 5mM, pH=8,0 e H₂O miliQ) até completar 35mL. As amostras foram submetidas a uma agitação em vórtex para que as hemácias fossem lisadas. Em seguida, foram centrifugadas a 4.000rpm por 15 minutos a 10°C. O sobrenadante foi desprezado e o procedimento foi repetido por três vezes até ocorrer à obtenção de um sedimento de leucócitos livres de hemácias. Esse sedimento foi transferido para um microtubo *Bio free* de 2mL (SARSTEDT®), livre de enzimas, como DNAses e RNAses, que poderiam comprometer a qualidade do DNA a ser extraído. Foi adicionado 1mL de tampão TE 20:5 e as amostras foram armazenadas a -20°C para posterior extração do DNA genômico.

O sedimento de leucócitos armazenado foi transferido para um tubo cônico de 15mL e adicionado 250uL da solução B (Solução A1x [EDTA 5mM, NaCl 5mM, Tris-HCl 20mM, H₂O miliQ], SDS 10%, Proteinase K e H₂O miliQ) a este. As amostras foram incubadas em banho-maria a 37°C *overnight*, até a dissolução completa do sedimento de leucócitos. No dia seguinte, foi acrescentado às amostras 1mL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e a mistura foi homogeneizada em um agitador orbital por 15 minutos. Em seguida, foi centrifugada a 4500 rpm por 15 minutos a 4°C e o sobrenadante transferido para um tubo de 15mL. Em seguida, acrescentou-se 1mL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) invertendo o tubo lentamente por 15 minutos e centrifugado a 4.500rpm por 15 minutos. A fase superior foi novamente recolhida e acrescentou-se 40µL de acetato de sódio 0,2M e 2mL de etanol 100% gelado. O tubo foi então invertido lentamente e o DNA precipitado recolhido e transferido para um microtubo de 2mL contendo etanol 70%. As amostras foram centrifugadas a 15000rpm por 10 minutos à temperatura ambiente. O sobrenadante foi desprezado e o microtubo ficou secando *overnight*. Em seguida, o DNA foi ressuspendido em 200uL de TE 20:1. Para verificar se o DNA extraído estava íntegro, foi realizada uma eletroforese em gel de agarose 1%.

2.2.3 Genotipagem

2.2.3.1 PCR em tempo real

Para a avaliação da presença da variante genética rs8050136 do gene *FTO*, foi realizada a técnica de PCR em Tempo Real por discriminação alélica com a utilização de sondas de hidrólise *TaqMan* (Applied Biosystems®, Foster City, CA). As sondas e iniciadores foram desenhados pela Applied Biosystems (ID do ensaio: C___2031259_10). Todas as reações de PCR continham 10 ng de DNA, 1,5 µL de *TaqMan Universal Master Mix* (AB) (2X), 0,1 µL de iniciadores e sondas (10X) e água ultrapura suficiente para um volume final de 5 µL, incluindo os controles negativos adequados em todos os ensaios. As reações foram realizadas no aparelho *StepOne Plus* (AB) sob as seguintes condições: 95°C por 10 minutos e 40 ciclos de amplificação (92°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto). Para cada ciclo, o *software* determinou o sinal fluorescente a partir das sondas marcadas com VIC ou FAM (Applied Biosystems®, Foster City, CA).

2.2.3.2 PCR alelo-específico e PCR-RFLP (polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição)

A avaliação da presença das variantes genéticas A>T rs9939609 e G>A rs9940128 do gene *FTO* foi realizada pela técnica de PCR alelo-específica e PCR-RFLP, respectivamente. Para a amplificação das sequências de interesse, o DNA foi submetido à reação de PCR, cuja concentração dos reagentes e temperaturas de hibridização encontram-se descritas na Tabela 3. Os *primers* e o tamanho do produto da PCR de cada variante genética encontram-se na Tabela 4.

Tabela 2 - Concentração dos reagentes utilizados e temperatura de hibridização para as variantes genéticas rs9939609 A>T e rs9940128 G>A do gene *FTO*.

Variante genética	DNA Genômico	Tampão (10x)	dNTP (2mM)	Primers	MgCl ₂	Taq DNA Polimerase (5U/µL)	T° de anelamento
rs9939609	200ng	1X	2,0mM	20pmoles	*	1U	58°C
rs9940128	200ng	1X	2,0mM	20pmoles	3,0mM	1U	60°C

* = O tampão já contém MgCl₂

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

Tabela 3 - Sequência de *primers* e tamanho do produto da PCR das variantes genéticas rs9939609 A>T e rs9940128 G>A do gene *FTO*.

Variante genética	Sequência de <i>primers</i> (5`- 3`)	Tamanho do produto de PCR (pb)
rs9939609	Sense: 5' GAG CTG TGA GGA ATA CTA GGA G 3'	354pb
	Anti-sense T: 5' GAG ACT ATC CAA GTG CAT CAC A 3'	
	Anti-sense A: 5' GAG ACT ATC CAA GTG CAT CAC T 3'	
rs9940128	Sense: 5' AGG CCT CAG CTT CCC TGA ACT GG 3'	150pb
	Anti-sense: 5' TGC CAT GGA AAA ATC TGG CTC ATG GT 3'	

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

Os produtos de PCR da variante genética rs9939609 foram identificados por eletroforeses em gel de agarose 2% para visualizar a presença do alelo A e/ou T.

Para a realização da genotipagem da variante genética rs9940128, o produto de PCR foi submetido à digestão com enzima de restrição *MspI*. Os tamanhos de fragmentos gerados foram de 150, 100 e 50pb. Para cada reação, foram utilizados 5µL de produto de PCR, Tampão 1X, 1U de enzima de restrição e água ultrapura q.s.p 15 µL. As amostras foram incubadas em banho-maria a 37°C por 15 minutos e posteriormente submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida 15%.

A genotipagem das variantes genéticas rs8050136, rs9940128 e rs9939609 foi feita por mais de um observador.

Todas as imagens foram capturadas pelo sistema de captura de imagens (L-PIX®) e os genótipos identificados.

2.2.4 Análise estatística

Para as variáveis quantitativas, foram utilizadas medidas de posição e centralidade (média) e medidas de dispersão e variabilidade (desvio padrão).

As variáveis categóricas foram analisadas através do *software SPSS* (IBM, Armonk, NY, USA). Para comparar as distribuições das frequências alélicas e genotípicas entre os grupos (grupos obesidade, sobrepeso e controle) e para verificar se as distribuições genotípicas seguiam o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi utilizado o teste de Qui-Quadrado (χ^2). O poder estatístico apresentou 80% para detecção de associação, utilizando o *software G POWER 3.1*.

Para a análise do modelo de herança e dos haplótipos, foi utilizado o programa SNPStats (disponível em: <http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats_web>). O modelo de herança e os efeitos das variantes genéticas foram avaliados por: 1 - Codominância (homozigoto tipo selvagem x heterozigoto x homozigoto polimórfico); 2 - Dominância (homozigoto tipo selvagem x heterozigoto + homozigoto polimórfico); 3 - Recessivo (homozigoto polimórfico x homozigoto tipo selvagem + heterozigoto) e 4 - Sobredominância (homozigoto tipo selvagem + homozigoto polimórfico x heterozigoto). O modelo de haplótipo do gene *FTO* foi inferido usando o programa SNPStats, verificando a frequência populacional estimada.

O modelo de regressão logística múltipla foi utilizado para determinar o efeito das variáveis analisadas e o desenvolvimento de obesidade infantil, incluindo fatores sociodemográficos, sinais clínicos e dados moleculares. Os modelos incluíram os seguintes dados: sexo (referência: sexo masculino), mãe obesa (referência: não), pai obeso (referência: não), histórico familiar de obesidade (referência: não), prática de atividade física (referência: não), presença do alelo variante A, C e T (referência: não). Os resultados do modelo de regressão logística foram apresentados em *Odds Ratio* (OR) e intervalos de confiança de 95% (IC-95%). O nível de significância considerado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

2.2.5 – Aspectos éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM (CAAE: 50100915.9.0000.5154) (ANEXO A).

A abordagem ao participante da pesquisa foi realizada em uma sala fechada, localizada no Ambulatório do HC, juntamente com seu responsável. O estudo foi explicado por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e assinado por ele e/ou por seu responsável (APÊNDICES B, C, D). Os dados epidemiológicos e clínicos foram preenchidos no momento da coleta de sangue, após a sua anuência e autorização.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Caracterização da amostra

O grupo de caso foi constituído por 186 crianças, entre 5 e 19 anos, separadas nos grupos sobrepeso (com 72 indivíduos) e obesidade (com 114 indivíduos), diagnosticadas de acordo com os critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (2006). O grupo controle foi constituído por 178 adultos com mais de 19 anos e sem nenhum histórico de obesidade infantil.

Características como sexo, pai e mãe obesos, histórico de obesidade na família e prática de atividade física, nos diferentes grupos, dos indivíduos que responderam ao questionário, são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Características epidemiológicas nos grupos obesidade, sobrepeso e controle.

Classificação	Controle	Obesidade	Sobrepeso	Total
Sexo masculino N(%) / N total	53(29,8)/178	44(38,6)/114	22(30,5)/72	119(32,7)/364
Sexo feminino N(%) / N total	125(70,2)/178	70(61,4)/114	50(69,5)/72	245(67,3)/364
Mãe com excesso de peso N(%) / N total	36(27,0)/133	57(51,3)/111	31(46,2)/67	124(39,8)/311
Pai com excesso de peso N(%) / N total	23(17,9)/128	43(39,0)/110	24(35,8)/67	92(30,1)/305
Obesidade na família N(%) / N total	56(51,3)/109	70(66,6)/105	51(77,2)/66	177(63,2)/280
Prática de atividade física N(%) / N total	63(52,9)/119	79(71,1)/111	44(73,3)/60	186(64,1)/290

N total = Total de participantes que responderam sobre o dado.

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

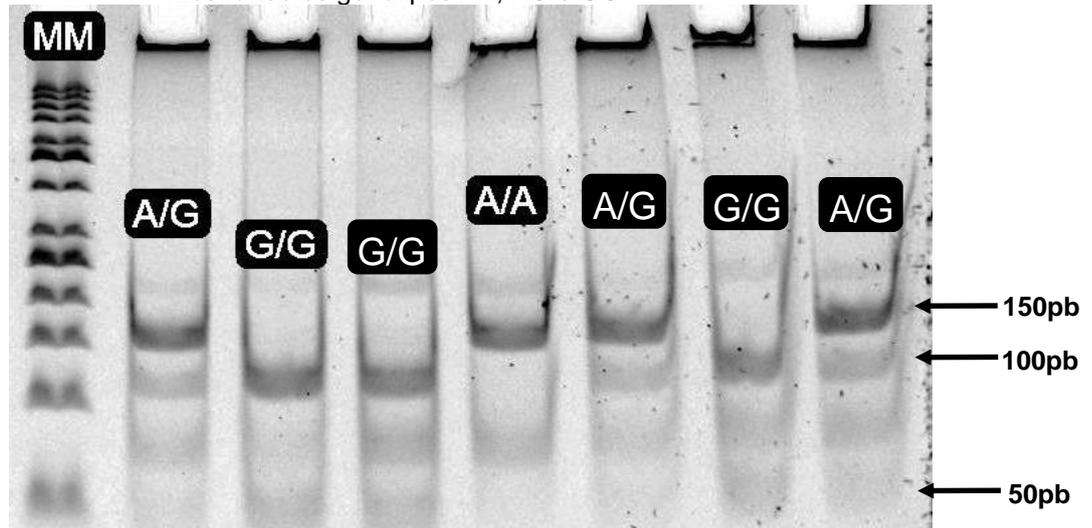
Observa-se que a frequência de mãe obesa, pai obeso, histórico de obesidade na família e prática de atividade física foi maior nos grupo de caso.

2.3.2 Análise da variante genética rs9940128 G>A

Para a variante genética rs9940128 G>A foram analisadas 364 amostras, sendo 178 do grupo controle, 114 do grupo obesidade e 72 do grupo sobrepeso.

Os produtos da PCR foram submetidos à digestão enzimática pela enzima de restrição *MspI*, dando origem aos genótipos AA (150pb), AG (150, 100 e 50pb) e GG (100 e 50pb), demonstrados na Figura 3.

Figura 3 - Gel de poliacrilamida 15% com os produtos de PCR digeridos pela enzima *MspI* para a variante genética rs9940128 G>A, mostrando os genótipos AA, AG e GG.



MM = Marcador molecular de 50pb.

Fonte: Da autora, UFTM, 2017.

As frequências genótípicas e alélicas para a variante genética rs9940128 G>A são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição das frequências genótípicas e alélicas da variante genética rs9940128 G>A do gene *FTO* em indivíduos com obesidade, sobrepeso e grupo controle.

Genótipo rs9940128G>A	Controle N(%)	Obesidade N(%)	Sobrepeso N(%)	Total N	χ^2	p	gl
Frequência genotípica							
AA	54(30,3)	35(30,8)	18(25)	107	0,965	0,915	4
GA	88(49,5)	56(49,1)	37(51,4)	181			
GG	36(20,2)	23(20,1)	17(23,6)	76			
Total	178	114	72	364			
Frequência alélica							
A	0,55	0,55	0,51				
G	0,45	0,45	0,49				

gl = grau de liberdade.

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre a frequência genotípica e alélica e os grupos estudados ($\chi^2=0,965$, $p=0,915$). Os grupos obesidade, sobrepeso e controle estão em EHW ($\chi^2=0,049$, $p=0,944$; $\chi^2=0,056$,

$p=0,81$; $\chi^2=0,0002$, $p=0,989$, respectivamente). A comparação entre os grupos e a presença do alelo variante é apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 – Comparação entre os grupos de estudo e a presença do alelo variante (A) da variante genética rs9940128 G>A.

Condição	χ^2	p	OR (95%-IC)
Obesidade x Sobrepeso	0,309	0,352	1,818 (0,402-1,664)
Obesidade x Controle	0,018	0,509	1,041 (0,576-1,882)
Sobrepeso x Controle	0,447	0,306	0,800 (0,415-0,541)

OR=Odds ratio; CI= Intervalo de confiança.

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa em nenhum dos grupos comparados para a presença do alelo variante.

2.3.3 Análise da variante genética rs8050136 A>C

Para a variante genética rs8050136 A>C, 356 amostras foram amplificadas, sendo 175 do grupo controle, 112 do grupo obesidade e 69 do grupo sobrepeso.

As frequências genótípicas e alélicas para a variante genética rs8050136 A>C são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Distribuição das frequências genótípicas e alélicas da variante genética rs8050136 A>C do gene *FTO* em indivíduos com obesidade, sobrepeso e grupo controle.

Genótipo rs9940136A>C	Controle N(%)	Obesidade N(%)	Sobrepeso N(%)	Total N	χ^2	p	gl
Frequência genotípica							
AA	22(12,5)	21(18,7)	14(20,2)	57	4,167	0,384	4
AC	80(45,8)	53(47,3)	32(46,4)	165			
CC	73(41,7)	38(40)	23(33,4)	134			
Total	175	112	69	356			
Frequência alélica							
A	0,35	0,42	0,36				
C	0,65	0,58	0,64				

gl = grau de liberdade.

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre a frequência genotípica e alélica e os grupos estudados ($\chi^2=4,167$ $p=0,384$). Os grupos obesidade, sobrepeso e controle estão em EHW ($\chi^2=0,1094$, $p=0,741$; $\chi^2=0,44$,

$p=0,12$; $\chi^2=0,0001$, $p=0,991$, respectivamente). A comparação entre os grupos e a presença do alelo variante é apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 – Comparação entre os grupos de estudo e a presença do alelo variante (C) da variante genética rs8050136 A>C.

Condição	χ^2	p	OR.(95%-IC)
Obesidade x Sobrepeso	0,605	0,472	0,907 (0,426-1,928)
Obesidade x Controle	2,047	0,104	0,623 (0,325-1,196)
Sobrepeso x Controle	2,344	0,094	0,565 (0,270-1,181)

OR=Odds ratio; CI= Intervalo de confiança.

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

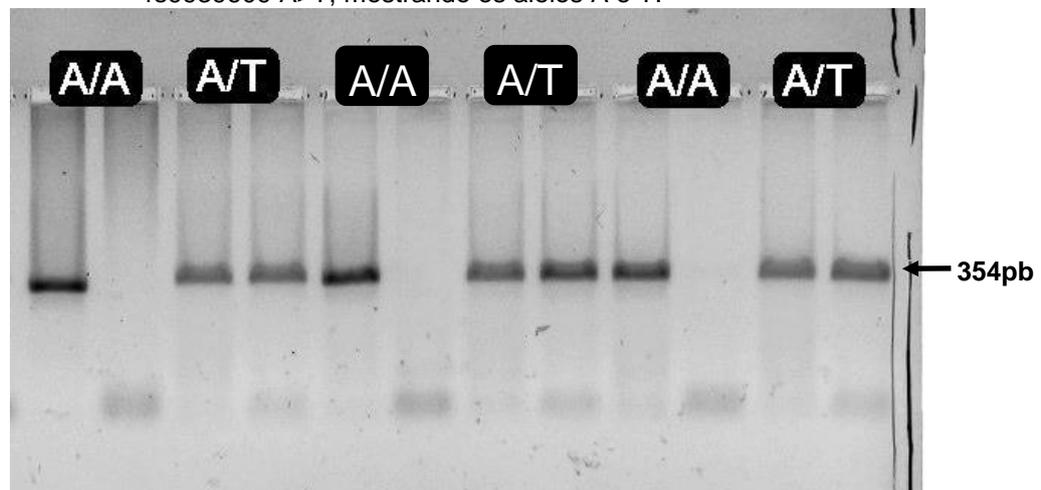
Não foi observada diferença estatisticamente significativa em nenhum dos grupos comparados para a presença do alelo variante.

2.3.4 Análise da variante genética rs9939609 A>T

Para a variante genética rs9939609 A>T 352 amostras foram amplificadas, sendo 174 do grupo controle, 111 do grupo obesidade e 67 do grupo sobrepeso.

Para analisar a presença do alelo A e/ou T, foram realizadas PCRs alelo-específico, nas quais há a utilização de *primers sense*, *antisense* e *primers* que se acoplam na posição do alelo mutante e na respectiva posição do alelo normal (BERTHOLO; MOREIRA, 2006), como demonstrado na Figura 4.

Figura 4 - Gel de agarose 2% com os produtos de PCR da variante genética rs9939609 A>T, mostrando os alelos A e T.



Fonte: Da autora, UFTM, 2017.

As frequências genotípicas e alélicas para a variante genética rs9939609 A>T são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 - Distribuição das frequências genotípicas e alélicas da variante genética rs9939609 A>T do gene *FTO* em indivíduos com obesidade, sobrepeso e grupo controle.

Genótipo rs9939609A>T	Controle N(%)	Obesidade N(%)	Sobrepeso N(%)	Total N	χ^2	p	gl
Frequência genotípica							
AA	36(20,7)	26(23,4)	13(19,4)	75	4,101	0,393	4
AT	128(73,5)	72(64,9)	48(71,6)	248			
TT	10(5,8)	13(11,7)	6(9)	29			
Total	174	111	67	352			
Frequência alélica							
A	0,57	0,56	0,55				
T	0,43	0,44	0,45				

gl = grau de liberdade.

Fonte: Elaborada pela autora, UFTM, 2017.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre a frequência genotípica e alélica nos grupos estudados ($\chi^2=4,101$ p=0,393). Os grupos obesidade, sobrepeso e controle não estão em EHW ($\chi^2=11,04$, p=0,0009; $\chi^2=13,49$, p=0,0002; $\chi^2=44,35$, p<0,0001, respectivamente). A comparação entre os grupos e a presença do alelo variante é apresentada na Tabela 10.

Tabela 10 – Comparação entre os grupos de estudo e a presença do alelo variante (T) da variante genética rs9939609 A>T.

Condição	χ^2	p	OR.(95%-IC)
Obesidade x Sobrepeso	0,395	0,332	1,271 (0,601-2,685)
Obesidade x Controle	0,325	0,334	0,847 (0,478-1,500)
Sobrepeso x Controle	0,027	0,513	1,061 (0,522-2,159)

OR=Odds ratio; CI= Intervalo de confiança.

Fonte: Elaborado pela autora, UFTM, 2017.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa em nenhum dos grupos comparados para a presença do alelo variante.

2.3.5 Análise de regressão logística para as variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C, rs9930609 A>T do gene *FTO*

A Tabela 11 apresenta os resultados da análise de regressão logística entre os grupos caso (obesidade e sobrepeso) e controle, para as variantes genéticas estudadas. O presente estudo considerou o sexo feminino como um fator de risco

para a obesidade devido às alterações hormonais mais frequentes neste sexo, principalmente durante a puberdade, o que pode levar ao aumento de peso corporal (IP et al., 2017; WISNIEWSKI et al., 2017).

Tabela 11 – Resultados da análise de regressão logística entre os grupos de caso (obesidade e sobrepeso) e controle.

Variável analisada	Grupo obesidade	Grupo sobrepeso	Grupo controle	p	OR	IC (95%)
Sexo feminino						
Sim(%)	70(61,4)	50(69,5)	125(70,2)	0,1983	0,67517	0,371095-1,228404
Não(%)	44(38,6)	22(30,5)	53(29,8)			
Mãe com excesso de peso						
Sim(%)	57(51,3)	31(46,2)	36(27,0)	0,0225	2,026114	1,104837-3,715605
Não(%)	54(48,7)	36(53,8)	97(73,0)			
Pai com excesso de peso						
Sim(%)	43(39,0)	24(35,8)	23(17,9)	0,2806	1,432197	0,745828-2,750216
Não(%)	67(61,0)	43(64,2)	105(82,1)			
Histórico familiar						
Sim(%)	70(66,6)	51(77,2)	56(51,3)	0,1964	1,472534	0,818574-2,649844
Não(%)	35(33,4)	15(22,8)	53(48,7)			
Prática de atividade física						
Sim(%)	79(71,1)	44(73,3)	63(52,9)	0,1276	1,573229	0,87826-2,818129
Não(%)	32(28,9)	16(26,7)	56(47,1)			
rs9940128 alelo A						
GA-AA	91(79,9)	55(76,4)	142(79,8)	0,0439	0,445862	0,20324-0,978115
GG	23(20,1)	17(23,6)	36(20,2)			
rs8050136 alelo C						
AC-CC	91(87,3)	55(79,8)	153(87,5)	0,089	0,395926	0,136095-1,151819
AA	21(18,7)	14(20,2)	22(12,5)			
rs9939609 alelo T						
AT-TT	85(76,6)	54(80,6)	138(79,3)	0,9094	0,955697	0,437858-2,085964
AA	26(23,4)	13(19,4)	36(20,7)			

OR=Odds ratio; IC= Intervalo de confiança.

Fonte: Elaborado pela autora, UFTM, 2017.

Na análise de regressão logística entre os grupos caso (obesidade e sobrepeso) e controle, o parâmetro mãe com excesso de peso foi estatisticamente significativo ($\chi^2=24,18$, $p=0,0225$), indicando que indivíduos nos quais a mãe tem excesso de peso possuem um risco duas vezes maior ($OR=2,026114$) de desenvolver obesidade em relação aos indivíduos nos quais a mãe não tem excesso de peso. Embora o parâmetro presença do alelo A da variante genética rs9940128 tenha dado um valor de p estatisticamente significativo ($\chi^2=24,18$, $p=0,0439$), indicando uma frequência maior do alelo variante A no grupo controle, não foi possível quantificar o risco.

2.3.6 Análise de padrão de herança das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T do gene *FTO*

A Tabela 12 apresenta a análise de associação das três variantes genéticas avaliadas neste estudo para modelo de herança, nos grupos caso (obesidade e sobrepeso) e controle, realizada pelo programa SNPStats.

Tabela 12 – Modelo de herança para as variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T.

Modelo	Genótipo	Grupo controle N(%)	Grupo de caso N(%)	OR (95% IC)	p
rs9940128 G>A					
Codominante	A/A	54 (30,3%)	53 (28,5%)	1,00	0,9
	G/A	88 (49,4%)	93 (50,0%)	1,08 (0,67-1,75)	
	G/G	36 (20,2%)	40 (21,5%)	1,15 (0,64-2,07)	
Dominante	A/A	54 (30,3%)	53 (28,5%)	1,00	0,67
	G/A-G/G	124 (69,7%)	133 (71,5%)	1,10 (0,70-1,73)	
Recessivo	A/A-G/A	142 (79,8%)	146 (78,5%)	1,00	0,74
	G/G	36 (20,2%)	40 (21,5%)	1,09 (0,66-1,81)	
Sobredominante	A/A-G/G	90 (50,6%)	93 (50,0%)	1,00	0,91
	G/A	88 (49,4%)	93 (50,0%)	1,02 (0,68-1,55)	
rs8050136 A>C					
Codominante	C/C	73 (41,7%)	61 (33,7%)	1,00	0,094
	A/C	80 (45,7%)	85 (47,0%)	1,31 (0,83-2,07)	
	A/A	22 (12,6%)	35 (19,3%)	2,00 (1,06-3,79)	
Dominante	C/C	73 (41,7%)	61 (33,7%)	1,00	0,09
	A/C-A/A	102 (58,3%)	120 (66,3%)	1,45 (0,94-2,25)	
Recessivo	C/C-A/C	153 (87,4%)	146 (80,7%)	1,00	0,065
	A/A	22 (12,6%)	35 (19,3%)	1,72 (0,96-3,08)	
Sobredominante	C/C-A/A	95 (54,3%)	96 (53,0%)	1,00	0,07
	A/C	80 (45,7%)	85 (47,0%)	1,06 (0,70-1,61)	
rs9939609 A>T					
Codominante	A/A	36 (20,7%)	39 (21,9%)	1,00	0,22
	A/T	128 (73,6%)	120 (67,4%)	0,86 (0,51-1,44)	
	T/T	10 (5,8%)	19 (10,7%)	1,70 (0,70-4,15)	
Dominante	A/A	36 (20,7%)	39 (21,9%)	1,00	0,74
	A/T-T/T	138 (79,3%)	139 (78,1%)	0,92 (0,55-1,53)	
Recessivo	A/A-A/T	164 (94,2%)	159 (89,3%)	1,00	0,1
	T/T	10 (5,8%)	19 (10,7%)	1,91 (0,86-4,25)	
Sobredominante	A/A-T/T	46 (26,4%)	58 (32,6%)	1,00	0,2
	A/T	128 (73,6%)	120 (67,4%)	0,74 (0,47-1,18)	

OR=Odds ratio; CI= Intervalo de confiança; p<0,05

Fonte: Elaborado pela autora, UFTM, 2017.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as variantes genéticas e os modelos de herança estudados.

2.3.7 Análise de haplótipos

A Tabela 13 apresenta os haplótipos construídos através da análise das três variantes genéticas do gene *FTO* avaliadas neste estudo (rs9940128, rs8050136, rs9939609) utilizando o programa SNPStats. Foi investigada a associação destes haplótipos com a suscetibilidade para desenvolver obesidade.

Tabela 13 – Haplótipos e frequência haplotípica das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C, rs9939609 A>T em indivíduos com sobrepeso/obesidade e grupo controle.

Haplótipo	Total	Frequência		OR (95% IC)	p
		Caso	Controle		
A-A-A	0,3491	0,3795	0,319	1.00	---
G-C-T	0,313	0,3314	0,2916	1.04 (0.67 - 1.61)	0.86
G-C-A	0,1346	0,1274	0,1438	0.75 (0.43 - 1.33)	0.33
A-C-T	0,0866	0,0667	0,1104	0.54 (0.26 - 1.10)	0.092
A-C-A	0,0733	0,0461	0,0991	0.39 (0.18 - 0.85)	0.017
A-A-T	0,0336	0,0427	0,022	1.78 (0.55 - 5.75)	0.34

OR=Odds ratio; CI= Intervalo de confiança; p<0,05

Fonte: Elaborado pela autora, UFTM, 2017.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os haplótipos e o desenvolvimento de obesidade. Mesmo que o haplótipo A-C-A tenha tido um valor de p menor que 0,05, a presença deste haplótipo é um fator de proteção contra a obesidade infantil.

2.4 DISCUSSÃO

A obesidade infantil é considerada um dos maiores problemas de saúde médica e pública, com sua prevalência aumentada, consideravelmente, a cada ano. A etiologia da doença é de caráter multifatorial, resultante de uma interação entre fatores genéticos e ambientais (KUMAR; KELLY, 2017). Dentre os fatores genéticos, o gene *FTO* é um dos mais relacionados a esta condição, tendo um papel importante no controle da homeostase energética e composição de gordura corporal, cuja ação concentra-se mais em regiões do cérebro caracterizadas por agirem no equilíbrio energético, como o hipotálamo, mas podendo também desempenhar suas funções em tecidos periféricos, como músculo esquelético e tecido adiposo (TUNG et al., 2014). Vários estudos investigam a associação entre variantes genéticas do gene *FTO* e o aumento de peso corporal em diferentes populações (BORDONI et al., 2017; CHUENTA et al., 2015; DWIVEDI et al., 2012; FRANZAGO et al., 2017; GRANT et al., 2008; HINNEY et al., 2007; KLÖTING et al., 2008; MEI et al., 2012; NAMJOU et al., 2013; KLIMENTIDIS et al., 2011).

Em relação à variante genética rs9940128 G>A, alguns estudos consideram como variante o alelo A (CHUENTA et al., 2015; HINNEY et al., 2007), enquanto outros consideram o alelo G (HOTTA et al., 2008; RAMYA et al., 2011). De acordo com o dbSNP (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=9940128), verificou-se como variante o alelo A, o que foi utilizado como referência no presente estudo.

Hinney e colaboradores (2007) estudaram crianças e adolescentes com obesidade extrema e encontraram associação entre o alelo A desta variante genética e obesidade de início precoce. Chuenta e colaboradores (2015), em um estudo com a população tailandesa, no qual o grupo de caso foi composto por crianças de 8 a 20 anos e o grupo controle por familiares aparentados em 1° e 2° graus do probando (sem informações sobre a idade), não encontraram associação entre o alelo A e a obesidade infantil, o que corrobora com o presente estudo, que também não encontrou associação.

Hotta e colaboradores (2008) concluíram que em japoneses adultos o alelo G está associado à obesidade severa e parâmetros relacionados, como nível de glicose plasmática, colesterol total, triglicérides e colesterol HDL.

Em relação à variante genética rs8050136 A>C, o dbSNP/NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=8050136) considera o alelo A o

ancestral, o que foi adotado no presente trabalho. Entretanto, os estudos consultados consideram como ancestral o alelo C.

No presente estudo não foi observada associação da obesidade com essa variante genética.

Namjou e colaboradores (2013) estudaram cinco grupos de crianças europeias e mostraram que, para a variante genética rs8050136, o alelo A está em associação com a obesidade em todos os grupos, resultado que também foi encontrado em outros estudos com crianças/adolescentes (DWIVEDI et al., 2012; GRANT et al., 2008; KLIMENTIDIS et al., 2011) e adultos (KLÖTING et al., 2008; MEI et al., 2012; XIAO et al., 2015).

Mei e colaboradores (2012) estudaram crianças/adolescentes e adultos e não encontraram associação entre o alelo A desta variante genética e a obesidade infantil, mas apenas a adulta, sugerindo que genes implicados em vias relacionadas ao desenvolvimento neural e ao metabolismo celular podem ter efeitos a longo prazo sobre o desenvolvimento da obesidade e que os genes expressos na infância e o IMC da idade adulta podem ser diferentes. Dwivedi e colaboradores (2012) também sugeriram que as variantes genéticas do gene *FTO* têm influência dependente da idade nos traços de adiposidade em indianos, com maior impacto em crianças em comparação com adultos.

Klimentidis e colaboradores (2011), em um estudo com crianças de várias etnias, indicaram que o alelo C confere proteção ao aumento de IMC e circunferência da cintura. No entanto, a associação foi contrária ao esperado, de modo que o alelo relatado como protetor na literatura com obesidade adulta (alelo A) foi relacionado à maior IMC e circunferência da cintura na amostra pediátrica, sugerindo que as associações genéticas com IMC entre crianças são diferentes em adultos, e que alguns locos podem agir através da massa corporal magra. Além disso, o risco genético não é o mesmo nos diferentes grupos étnicos/raciais.

Já Stratigopoulos e colaboradores (2008, 2016) encontraram associação diferente dos demais estudos, mostrando que o alelo A está relacionado à diminuição da expressão do gene *FTO* e de um gene próximo, *RPGRIP1L*, e associado a um menor IMC, preferencialmente quando se liga ao *CUTL1* no DNA dos fibroblastos em humanos, diminuindo a expressão do gene *FTO*, em camundongos.

Apesar de o presente estudo considerar o alelo A como ancestral, não se observou associação da variante genética rs8050136 com a obesidade infantil. Estudos utilizam a circunferência da cintura como fator de risco para obesidade, fato não considerado neste trabalho, o que poderia ser um dado importante na análise de associação. Ressalta-se ainda que a população brasileira é bastante heterogênea geneticamente, o que dificulta a comparação com outros estudos.

Para a variante genética rs9939609 A>T, segundo o dbSNP (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=9939609), o alelo A é o ancestral, o que foi considerado no presente trabalho e não pelos demais.

Bordoni e colaboradores (2017) não encontraram associação entre o alelo A desta variante genética e a obesidade infantil em uma população de crianças italianas, o que corrobora com o presente estudo, que também não observou associação. Além disso, as frequências alélicas dos grupos obesidade, sobrepeso e controle do presente estudo não estão em EHW, o que pode indicar que fatores relacionados a esta variante genética interfiram na frequência gênica nesta população. Outro fator a ser considerado é a deriva genética ou erro de amostragem. Em todos os grupos é observada uma frequência genotípica alta nos indivíduos heterozigotos.

Estudos encontraram associação entre a presença do alelo A da variante genética rs9939609 A>T e a obesidade infantil (DWIVEDI et al., 2012; MENG et al., 2014; ZOU et al., 2015). Dwivedi e colaboradores (2012), em uma população de crianças indianas, analisaram outros parâmetros e observaram que o alelo A está associado ao aumento de IMC, peso, circunferência da cintura e do quadril. Além disso, é responsável pela variação de até 0,88% no IMC e 0,65% na circunferência da cintura.

Zou e colaboradores (2015) relataram que crianças e adolescentes chinesas com o genótipo AA ou AT tinham um IMC maior em relação ao mesmo grupo com genótipo TT, indicando o alelo T como alelo protetor. Além disso, a presença de pelo menos um alelo A revelou uma maior perda de controle durante a refeição, tendendo a comer mais, e maior seleção de alimentos ricos em gordura em uma dieta livre. Também foi encontrada associação entre os genótipos AA e AT e níveis de alguns parâmetros relacionados com a obesidade, como níveis de colesterol total, colesterol LDL, glóbulos vermelhos, hemoglobina e hematócrito.

Outros estudos não encontraram associação entre esta variante genética e a obesidade e parâmetros como IMC, adiposidade, nível de glicose, colesterol LDL e HDL e pressão arterial (FRANZAGO et al., 2017; DE LUIS et al., 2012; YAJNIK et al., 2009) em populações adultas.

Vale observar que a maioria dos estudos que encontrou associação entre o alelo A da variante genética rs9939609 e a obesidade infantil/adulta avaliou populações asiáticas, que são menos miscigenadas que a população brasileira e compostas em sua maioria por indivíduos de fenótipo mais magro (CHIU et al., 2011; LOW et al., 2009; RAZAK et al., 2007), o que pode estar relacionado a um estilo de vida mais saudável, fato que pode levar à modulação de genes associados à obesidade.

Resultados de não associação entre as variantes genéticas e a obesidade infantil podem ter sido encontrados pelo fato do presente estudo não distinguir as crianças (até 12 anos) dos adolescentes (dos 12 aos 19 anos), inserindo-os em grupos diferentes. É sabido que a puberdade ocorre em média aos 12 anos de idade e é caracterizada por muitas alterações hormonais e corporais (BRANCO; CINTRA; FIBERG, 2006; DANIELS; HASSINK, 2015; SLOBODA et al., 2007; THOMAS et al., 2001). Este fato pode levar a mudanças no IMC, o que acaba interferindo nos achados sobre a real influência dos fatores genéticos na obesidade infantil. Além disso, fatores não-genéticos modulam a expressão de genes relacionados à essa doença multifatorial, como hábitos alimentares e prática de atividade física, eventos que também alteram consideravelmente o peso corporal e outras condições relacionados à obesidade, como resistência à leptina e à insulina (DANIELS; HASSINK, 2015; FREDERICH et al., 1995; GUÍZAR-MENDOZA et al., 2005; POPKIN, 2006). A infância e adolescência são períodos nos quais os fatores ambientais não são estáveis como nos idosos, grupo etário no qual observa-se melhor a influência direta dos componentes genéticos em determinada doença de caráter multifatorial (ROTTER et al., 2016). Além disso, mesmo que determinados indivíduos tenham a predisposição genética necessária, eles respondem de forma diferente aos fatores ambientais obesogênicos, o que influencia no efeito dos fatores genéticos na obesidade (CHEUNG; YEO, 2011).

Os dados do grupo controle, no presente estudo, foram obtidos por meio de autorrelato, o que pode não ser fidedigno, considerando que o indivíduo já adulto pode não se lembrar do seu IMC aos seis anos, por exemplo. Devido a isso, ter ou

não sobrepeso/obesidade pode ser um fato muito relativo, no qual enquanto este indivíduo já seria diagnosticado com sobrepeso por meio do IMC na sua infância, ele pode não ter considerado este excesso de peso como sobrepeso, sendo um viés no presente trabalho.

O histórico de obesidade materna é um evento importante para se relacionar com o risco da descendência desenvolver obesidade. Boney e colaboradores (2005) concluíram que crianças grandes ao nascer foram expostas a um ambiente intrauterino de diabetes ou obesidade materna e tem um risco maior de desenvolver síndrome metabólica durante a infância. Estudos recentes também concluíram que a obesidade materna é um fator de risco para a descendência (CATALANO; SHANKAR, 2017; GODFREY et al., 2017). Segundo Maffeis e Morandi (2017), a distribuição de gordura corporal em mulheres obesas favorece a lipotoxicidade e disfunções metabólicas, expondo o feto à sobrecarga de glicose e gordura, causando o aumento de seu tamanho e de massa gorda, assim como uma disfunção metabólica e inflamações. O presente estudo sugere o mesmo, no qual uma mãe obesa confere um risco duas vezes maior para a descendência desenvolver obesidade na infância.

Estudos recentes relataram que a prática de exercício físico está associada a uma redução significativa de aumento de peso infantil, gordura visceral, subcutânea e hepática (GONZÁLEZ-RUIZ et al., 2017; KEANE et al., 2017; VIDEIRA-SILVA; FONSECA, 2017).

Rajjo e colaboradores (2017), entretanto, mostraram que a prática de exercício físico sem restrição calórica resultou em melhorias na pressão arterial, mas não causou perda de peso. Somente quando o exercício foi combinado com dieta, importantes reduções nas medidas de peso corporal foram observadas. Este achado corrobora com nosso estudo, que não encontrou associação entre a prática de exercício físico e a perda de peso corporal, o que pode ser explicado pelo fato de nem todos os participantes terem respondido sobre a prática de exercícios físicos e, os que responderam, tinham uma frequência semanal muito variada, de uma até sete vezes por semana.

O sexo feminino também parece ser um fator de risco para a obesidade. Ip e colaboradores (2017), em um trabalho sobre os determinantes do efeito rebote da adiposidade, e Wisniewski e colaboradores (2017), com crianças peruanas, relataram que o sexo feminino é um fator de risco para esta condição. Entretanto,

Akca, Uysal e Buyukgonenc (2016), com uma população da Turquia, não encontraram associação entre sexo feminino e obesidade. Vale observar que a população turca é composta em sua maioria por homens, o que pode levar a um enfoque nutricional maior neste sexo. O presente estudo também não encontrou associação entre este parâmetro e a obesidade infantil.

Vale ressaltar que a amostra investigada é relativamente pequena e, por ser um estudo com a população brasileira, muito heterogênea. Além disso, as respostas sobre a prática de atividade física foram obtidas por meio de autorrelato, dificultando a interpretação da frequência semanal da mesma. Esses dados interferem no resultado, o que, provavelmente, levou a uma não associação entre os parâmetros sexo e prática de atividade física.

Vários estudos também relatam associação entre as variantes genéticas investigadas e o DM2. Em um estudo com sul indianos, Ramya e colaboradores (2011) não observaram associação da variante genética rs9940128 com a obesidade, mas com o DM2, mostrando que o genótipo GG (ancestral) confere um risco duas vezes maior de desenvolver esta doença, concluindo que o alelo A é protetor.

Outros trabalhos relataram associação da variante genética rs8050136 com o DM2 (QIAN et al., 2013; VOTSI et al., 2017; XIAO et al., 2015, 2016; YANG et al., 2017). Qian e colaboradores (2013) descreveram que os genótipos AC/AA foram associados a um risco maior de desenvolver essa doença, e Xiao e colaboradores (2015) mostraram que esta variante genética pode correlacionar-se com o DM2 por meio do IMC. Vale ressaltar que o DM2 é uma doença na qual a obesidade é um fator de risco, mas, no presente estudo, a presença dessa condição foi critério de exclusão.

Yajnik e colaboradores (2009), em um estudo com adultos indianos, encontraram associação entre o alelo A da variante genética rs9939609 e o DM2. De Luis e colaboradores (2012), em um estudo com pacientes caucasianos obesos, também encontraram associação do alelo A e níveis de insulina, triglicérides, resistência insulínica e adiponectina, fatores que também podem provocar mudanças no peso corporal.

Quanto aos modelos de herança, o presente estudo não encontrou associação entre o alelo T da variante genética rs9939609 e a obesidade infantil. Rotter e colaboradores (2016), com homens de meia-idade e idosos, encontraram

associação entre o alelo A e níveis maiores de colesterol total e colesterol LDL no modelo de herança recessivo, indicando que homozigotos deste alelo possuem concentrações maiores de colesterol total e LDL em relação a outros genótipos. Este estudo pode ter encontrado associação por se tratar de uma avaliação com indivíduos com mais de 65 anos, que se encaixam em uma faixa etária na qual se observa com mais clareza a real influência genética nas condições investigadas. Papathanasopoulos e colaboradores (2010) também observaram que o alelo A para padrão recessivo da variante genética rs9939609 estava associado a um volume máximo tolerado (para chegar à saciedade durante uma alimentação) diminuído. O mesmo foi encontrado por Huang e colaboradores (2016) com pacientes com câncer.

Para a variante genética rs8850136, Liu e Chen (2017) observaram associação do alelo A com a Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) para o padrão recessivo. Vale ressaltar que a obesidade está relacionada a esta condição clínica.

Qian e colaboradores (2013), com a população chinesa, indicaram que o alelo A desta variante genética possui associação com o DM2 em ambos os grupos caso e controle para o modelo de herança, sugerindo que portadores dos genótipos AC ou AA possuem um risco maior de desenvolver essa doença, considerando o alelo A dominante. Ewens e colaboradores (2010), com mulheres com SOP, relataram o alelo A das variantes genéticas rs8050136 e rs9939609, como padrão recessivo, está associado à suscetibilidade para obesidade. O presente estudo não observou associação no modelo de herança, fato também encontrado por Namjou e colaboradores (2013).

Quanto à variante genética rs9940128, não foi identificada associação aplicando o modelo de herança no presente estudo. O mesmo achado foi observado por Hinney e colaboradores (2007) e Chuenta e colaboradores (2015).

As distribuições dos genótipos das variantes genéticas rs9940128, rs8050136 e rs9939609 no modelo de herança, considerando codominante, sobredominante, dominante e recessivo não diferiram entre os grupos caso e controle, o que pode explicar um resultado de não associação encontrado.

Até o momento, não há trabalhos na literatura relacionando simultaneamente estas variantes genéticas na obesidade infantil, o que pode indicar ser este o primeiro estudo a investigar este haplótipo nesta doença. Devido a isso, a

comparação dos resultados com a literatura é insuficiente. No presente estudo, o haplótipo A-A-A foi mais frequente nos grupos caso e controle. O haplótipo A-C-A está mais frequente no grupo controle, o que sugere ser um fator de proteção contra a obesidade infantil.

O termo haplótipo pode ser definido como uma combinação de alelos de múltiplos locos localizados em cromossomos homólogos, e que podem ser herdados juntos (ZUO; WANG; LUO, 2014). Os haplótipos surgem como um atributo intrínseco da variação genética populacional (CLARK, 2004) e, além disso, as análises baseadas em haplótipos podem apresentar resultados mais sólidos quando se investiga o efeito dos alelos variantes na etiologia de determinada doença em relação às análises de apenas um SNP isoladamente (MORRIS; MORRIS; KAPLAN, 2002).

O haplótipo CGA das variantes genéticas rs1421085, rs17817449 e rs9939609, respectivamente, foi associado com a obesidade no estudo de Price, Li e Zhao (2008) com obesos extremos. Elouej e colaboradores (2016), com as variantes genéticas rs1421085, rs8057044 e rs9939609, encontraram três haplótipos comuns, TGT (43%), CAA (28%) e TAT (11%), e indicaram que os haplótipos CGA e TGT conferem risco de desenvolver síndrome metabólica apenas em mulheres.

Zeng e colaboradores (2015), em uma população chinesa, mostraram que o haplótipo TAC das variantes genéticas rs9939609, rs1477196 e rs1121980 diminui o risco de desenvolver câncer de mama, indicando haver relação entre o gene *FTO* e a patogênese do câncer de mama em mulheres.

Em um estudo com norte indianos, Srivastava e colaboradores (2016) encontraram associação entre as variantes genéticas rs8050136, rs1421085, rs9939609, rs17817449, do gene *FTO*, e rs3751723, do gene *IRX-3*, e a obesidade com os haplótipos AACTG, CTTGT e AACGT, o que reforça a ligação entre estes dois genes.

Um estudo de Ramos e Spritzer (2015) com mulheres brasileiras relataram que a presença do haplótipo AA destas variantes genéticas não conferia um risco maior de desenvolver SOP, mas sim hiperglicemia em jejum. Junqing e colaboradores (2014), em um estudo com adolescentes chineses de 14 a 18 anos, não encontraram associação entre os haplótipos GTTC e TAAA das variantes genéticas rs3751812, rs9939609, rs1558902 e rs8050136 e o risco de estar acima do peso.

Em relação à variante genética rs9940128, Ramya e colaboradores (2011) mostraram que os haplótipos GCCTTA e GCCTTT das variantes genéticas rs9940128, rs7193144, rs8050136, rs918031, rs1588413 e rs11076023 conferiam risco de desenvolver DM2. Em contrapartida, o haplótipo ACCTCT foi associado à diminuição do risco de desenvolver esta condição.

Sabe-se que a obesidade é um transtorno complexo, com gravidade clínica variada, e pode ser um fator de risco para inúmeras outras condições alarmantes, como DM2 e doenças cardiovasculares. Portanto, é esperado que diversos genes estejam envolvidos nos mecanismos que contribuem para o desenvolvimento dessa doença.

Variantes genéticas, principalmente no primeiro *íntron* do gene *FTO*, uma região onde a sequência é fortemente conservada entre as espécies, foram os primeiros SNPs a serem associados ao aumento de peso corporal (FRAYLING et al., 2007) e, por meio de evidências, conclui-se ser o gene *FTO* o fator genético mais importante na obesidade (ALMÉN et al., 2013), sugerindo que um sítio de cisregulação alterado dentro do haplótipo do *íntron* associado a esta condição leva a uma expressão elevada do gene *FTO* (BERULAVA; HORSTHEMKE, 2010). Os efeitos deste gene podem diferir dependendo da região do cérebro, tecido e/ou fase de desenvolvimento (FAROOQI, 2011), e sua expressão elevada pode alterar a expressão ou secreção de leptina do tecido adiposo (CHURCH et al., 2010). Seu papel fisiológico também poderia estar ligado ao reparo ou modificação de ácidos nucleicos (CHEUNG; YEO, 2011).

Assim sendo, são necessários mais estudos com este gene no intuito de avaliar o papel de suas variantes genéticas na obesidade, em conjunto com os fatores ambientais, para haver um melhor entendimento desta condição que atinge todas as idades, e sugerir possíveis biomarcadores moleculares que auxiliem no diagnóstico precoce de crianças e adolescentes sob risco de desenvolver esta condição.

3 CONCLUSÃO

O genótipo heterozigoto das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T é mais frequentes nos três grupos estudados (sobrepeso, obesidade e controle). A frequência do alelo variante é maior nas variantes genéticas rs9940128 G>A e rs8050136 A>C e menor na variante genética rs9939609 A>T para os grupos estudados.

Não há associação das variantes genéticas rs9940128 G>A, rs8050136 A>C e rs9939609 A>T e parâmetros como sexo, pai obeso, histórico de obesidade na família e prática de atividade física, com o risco de desenvolver obesidade infantil. Entretanto, por meio da análise de regressão logística, observa-se que a mãe com excesso de peso confere um risco maior de sua descendência desenvolver obesidade na infância, o que pode conduzir a novas pesquisas acerca do papel da herdabilidade nesta doença e no monitoramento familiar de crianças que apresentam excesso de peso.

O haplótipo A-A-A é mais frequente nos grupos caso e controle e o haplótipo A-C-A é mais frequente no grupo controle, sugerindo ser um fator de proteção contra a obesidade infantil, fato que também pode auxiliar na investigação da ação simultânea de variantes genéticas do gene *FTO* no desenvolvimento desta doença.

REFERÊNCIAS

AKCA, S. O.; UYSAL, G.; BUYUKGONENC, L. A. Obesity in Nursery School Children in Corum, Turkey. **Iran. Red. Crescent. Med. J.**, v. 18, n. 10, p. e27734, 2016.

ALBUQUERQUE, D. et al. Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. **Mol. Genet. Genomics**, v. 290, n. 4, p. 1191-1221, 2015.

ALMÉN, M. S. et al. Determination of the obesity-associated gene variants within the entire FTO gene by ultra-deep targeted sequencing in obese and lean children. **International Journal of Obesity**, v. 37, p. 424–431, 2013.

ANJOS, L. A. Índice de massa corporal (massa corporal estatura-2) como indicador do estado nutricional de adultos: revisão da literatura. **Revista de Saúde Pública, São Paulo**, v. 26, n. 6, p. 431-436, 1992.

ANKER, M. S. et al. Highlights of the mechanistic and therapeutic cachexia and sarcopenia research 2010 to 2012 and their relevance for cardiology. **Int. J. Cardiol.**, v. 162, n. 2, p. 73-6, 2013.

APALASAMY, Y. D.; MOHAMED, Z. Obesity and genomics: role of technology in unraveling the complex genetic architecture of obesity. **Hum. Genet.**, v. 134, n. 4, p. 361-74, 2015.

ATTAOUA, R. et al. Association of the FTO gene with obesity and the metabolic syndrome is independent of the IRS-2 gene in the female population of Southern France. **Diabetes Metab.**, v. 35, n. 6, p. 476-83, 2009.

BARNESS, L. A. et al. Obesity: Genetic, molecular, and environmental aspects. **Am. J. Med. Genet.**, v. 143, n. 24, p. 3016-3034, 2007.

BERGLUND, E. D. et al. Melanocortin 4 receptors in autonomic neurons regulate thermogenesis and glycemia. **Nat. Neurosci.**, v. 17, n. 7, p. 911-913, 2014.

BERTHOLO, L. C.; MOREIRA, H. W. Amplificação gênica alelo-específica na caracterização das hemoglobinas S, C e D e as interações entre elas e talassemias beta. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 42, n. 4, p. 245-251, 2006.

BERULAVA T, HORSTHEMKE, B. Comment on: Jowett et al. (2010) Genetic variation at the FTO locus influences RBL2 gene expression. **Diabetes**, v. 59, p. 726–732, 2010.

BERULAVA, T.; HORSTHEMKE, B. The obesity-associated SNPs in intron 1 of the FTO gene affect primary transcript levels. **Eur. J. Hum. Genet.**, v. 18, n. 9, p. 1054-1056, 2010.

- BOMBERG, E. et al. The Financial Costs, Behaviour and Psychology of Obesity: A One Health Analysis. **J. Comp. Pathol.**, v. 156, n. 4, p. 310-325, 2017.
- BONNET, M. H.; ARAND, D. L. We are chronically sleep deprived. **Sleep**, v. 18, n. 10, p. 908-911, 1995.
- BORDONI, L. et al. Obesity-related genetic polymorphisms and adiposity indices in a young Italian population. **IUBMB Life**, v. 69, n. 2, p. 98-105, 2017.
- BOUCHARD, C. et al. The response to exercise with constant energy intake in identical twins. **Obes. Res.**, v. 2, n. 5, p. 400-10, 1994.
- BOUCHARD, C. et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, n. 21, p. 1477-1482, 1990.
- BRANCO, L. M.; CINTRA, I. P.; FIBERG, M. Adolescente gordo ou magro: realidade ou fantasia? **Nutrição Brasil**, v. 5, n. 4, p. 189-194, 2006.
- CASTELLINI, G. et al. Fat mass and obesity-associated gene (*FTO*) is associated to eating disorders susceptibility and moderates the expression of psychopathological traits. **PLoS One**, v. 12, n. 3, 2017.
- CATALANO, P. M.; SHANKAR, K. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child. **BMJ**, v. 356, p. j1, 2017.
- CAVANILLES, E. W. et al. Effectiveness of weight loss in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis in an obese adolescent. **An. Pediatr. (Barc)**, v. 66, n. 2, p. 184-187, 2007.
- CHA, S. W. et al. Replication of genetic effects of *FTO* polymorphisms on BMI in a Korean population. **Obesity**, v. 16, n. 9, p. 2187-9, 2008.
- CHAMBERS, J. C. et al. Common genetic variation near *MC4R* is associated with waist circumference and insulin resistance. **Nat. Genet.**, v. 40, n. 6, p. 716-8, 2008.
- CHANG, Y. C. et al. Common variation in the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene confers risk of obesity and modulates BMI in the Chinese population. **Diabetes**, v. 57, n. 8, p. 2245-52, 2008.
- CHEUNG, M. M.; YEO, G. S. H. *FTO* biology and obesity: why do a billion of us weigh 3 kg more? **Front. Endocrinol.**, v. 2, p. 4, 2011.
- CHINN, S.; RONA, R. J. Prevalence and trends in overweight and obesity in three cross sectional studies of British children, 1974-94. **BMJ**, v. 322, n. 7277, p. 24-26, 2001.
- CHIU, M. et al. Deriving ethnic-specific BMI cutoff points for assessing diabetes risk. **Diabetes Care**, v. 34, p. 1741-1748, 2011.

CHORLEY, B. N. et al. Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current and developing technologies. **Mutat. Res.**, v. 659, n. 1-2, p. 147-157, 2008.

CHUENTA, W. et al. Common variations in the *FTO* gene and obesity in Thais: a family-based study. **Gene**, v. 558, n. 1, p. 75-81, 2015.

CHURCH, C. et al. Overexpression of *FTO* leads to increased food intake and results in obesity. **Nat. Genet.**, v. 42, n. 12, p. 1086–1092, 2010.

CLARK, A. G. The Role of Haplotypes in Candidate Gene Studies. **Genetic Epidemiology**, v. 27, p. 321–333, 2004.

CONSIDINE, R. V.; CARO, J. F. Leptin: genes, concepts and clinical perspective. **Horm. Res.**, v. 46, n. 6, p. 249-256, 1996.

CUMMINGS, D. E. et al. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. **Diabetes**, v. 50, n. 8, p. 1714-9, 2001.

CUMMINGS, D. E. Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. **Physiol. Behav.**, v. 89, n. 1, p. 71-84, 2006.

DAMIANI, D.; DAMIANI, D.; OLIVEIRA, R. G. Obesidade - fatores genéticos ou ambientais? **Pediatria Moderna**, v. 38, n. 3, p. 57-80, 2002.

DANIELS, S. R.; HASSINK, S. G. The role of the pediatrician in primary prevention of obesity. **Pediatrics**, v. 136, n. 1, p. 275-292, 2015.

DE LUIS, D. A. et al. Relación del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* com factores de riesgo cardiovascular y niveles de adipocitoquinas en pacientes com obesidad mórbida. **Nutr Hosp.**, v. 12, p. 27-1184, 2012.

DENNISON, B. A.; ERB, T. A.; JENKINS, P. L. Television viewing and television in bedroom associated with overweight risk among low-income preschool children. **Pediatrics**, v. 109, n. 6, p. 1028-1035, 2002.

DHILLON, H. et al. Leptin directly activates SF1 neurons in the VMH, and this action by leptin is required for normal body-weight homeostasis. **Neuron**, v. 49, n. 2, p. 191-203, 2006.

DINA, C. et al. Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity. **Nature Genet.**, v. 39, n. 6, p. 724-726, 2007.

DOAEI, S. et al. Macronutrients and the *FTO* gene expression in hypothalamus; a systematic review of experimental studies. **Indian Heart J.**, v. 69, n. 2, p. 277-281, 2017.

DORES, R. M. Observations on the evolution of the melanocortin receptor gene family: distinctive features of the melanocortin-2 receptor. **Front. Neurosci.**, v. 7, p. 28, 2013.

DWIVEDI, O. P. et al. Common Variants of *FTO* Are Associated with Childhood Obesity in a Cross-Sectional Study of 3,126 Urban Indian Children. **PLoS One**, v. 7, n. 10, p. e47772, 2012.

EBBELING, C. B.; PAWLAK, D. B.; LUDWIG, D. S. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. **The Lancet**, v. 360, n. 9331, p. 473-482, 2002.

ELOUEJ, S. et al. Association of rs9939609 Polymorphism with Metabolic Parameters and *FTO* Risk Haplotype Among Tunisian Metabolic Syndrome. **Metab. Syndr. Relat. Disord.**, v. 14, n. 2, p. 121-128, 2016.

EROL, M. et al. Association of Osteoprotegerin with Obesity, Insulin Resistance and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children. **Iran Red. Crescent. Med. J.**, v. 18, n. 11, p. e41873, 2016.

EWENS, K. G. *FTO* and MC4R Gene Variants Are Associated with Obesity in Polycystic Ovary Syndrome. **PloS One**, v. 6, n. 1, p. e16390, 2011.

FAROOQI, S. *FTO* and Obesity: The Missing Link. **Cell Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 7-8, 2011.

FONTANIVE, R. S.; COSTA, R. S.; SOARES, E. A. Comparison between the nutritional status of eutrophic and overweight adolescents living in Brazil. **Nutr. Res.**, v. 22, n. 6, p. 667-668, 2002.

FOSTER-SCHUBERT, K. E; CUMMINGS, D. E. Emerging therapeutic strategies for obesity. **Endocr Rev.**, v. 27, n. 7, p. 779-93, 2006.

FRANZAGO, M. et al. Molecular Analysis of a Genetic Variants Panel Related to Nutrients and Metabolism: Association with Susceptibility to Gestational Diabetes and Cardiometabolic Risk in Affected Women. **Journal of Diabetes Research**, v. 2017, p. 4612623, 2017.

FRAYLING, T. M. et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. **Science**, v. 316, n. 5826, p. 889-894, 2007.

FREDERICH, R. C. et al. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. **Nat. Med.**, v. 12, p. 1311-1314, 1995.

FREEDMAN, D. S. et al. Cardiovascular risk factors and excess adiposity among overweight children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **J. Pediatr.**, v. 150, n. 1, p. 12-17, 2007.

FREEDMAN, D. S.; SHERRY, B. The validity of BMI as an indicator of body fatness and risk among children. **Pediatrics**, v. 124, p. 23-34, 2009.

FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v. 395, n. 6704, p. 763-770, 1998.

FUEMMELER, B. F. Genes implicated in serotonergic and dopaminergic functioning predict BMI categories. *Obesity*, v. 16, n. 2, p. 348-355, 2008.

GARCÍA-SOLÍS, P. et al. Fat mass obesity-associated (*FTO*) (rs9939609) and melanocortin 4 receptor (*MC4-R*) (rs17782313) SNP are positively associated with obesity and blood pressure in Mexican school-aged children. *Br. J. Nutr.*, v. 10, p. 1-7, 2016.

GENNUSO, J. et al. The relationship between asthma and obesity in urban minority children and adolescents. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, v. 152, n. 12, p. 1197-1200, 1998.

GILLMAN, M. W. et al. Family dinner and diet quality among older children and adolescents. *Arch. Fam. Med.*, v. 9, n. 3, p. 235-240, 2000.

GODFREY, K. M. et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *Lancet. Diabetes. Endocrinol.*, v. 5, n. 1, p. 53-64, 2017.

GONZÁLEZ-RUIZ, K. et al. The Effects of Exercise on Abdominal Fat and Liver Enzymes in Pediatric Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Child Obes.*, v. 21, 2017.

GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, J. L. et al. Variant rs9939609 in the *FTO* gene is associated with obesity in an adult population from Spain. *Clin. Endocrinol.*, v. 70, n. 3, p. 390-3, 2009.

GORTMAKER, S. L. et al. Increasing pediatric obesity in the United States. *Am. J. Dis. Child.*, v. 141, p. 535-540, 1987.

GRANT, S. F. et al. Association analysis of the *FTO* gene with **obesity** in children of Caucasian and African ancestry reveals a common tagging SNP. *PLoS One*, v. 3, n. 3, p. e1746, 2008.

GRIFFITHS, L. J. et al. Risk factors for rapid weight gain in preschool children: findings from a UK-wide prospective study. *Int. J. Obes. (Lond)*, v. 34, n. 4, p. 624-632, 2010.

GUÍZAR-MENDOZA, J. M. et al. Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *J. Hum. Hypertens.*, v. 19, n. 5, p. 341-346, 2005.

GUPTA, N. K. et al. Is obesity associated with poor sleep quality in adolescents? *Am. J. Hum. Biol.*, v. 14, n. 6, p. 762-768, 2002.

HALFORD, J. C. et al. Serotonergic drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. *Drugs*, v. 67, n. 1, p. 27-55, 2007.

HANADA, R. et al. Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin signaling pathway. *Nat. Med.*, v. 10, n. 10, p. 1067-73, 2004.

- HARBRON, J. et al. Fat Mass and Obesity-Associated (*FTO*) gene polymorphisms are associated with physical activity, food intake, eating behaviors, psychological health, and modeled change in body mass index in overweight/obese caucasian adults. **Nutrients**, v. 6, n. 8, p. 3130-3152, 2014.
- HASLER, G. et al. The association between short sleep duration and obesity in young adults: a 13-year prospective study. **Sleep**, v. 27, n. 4, p. 661-666, 2004.
- HAVEL, P. J. et al. Gender differences in plasma leptin concentrations. **Nat. Med.**, v. 2, n. 9, p. 949-950, 1996.
- HE, Q. et al. Trunk fat and blood pressure in children through puberty. **Circulation**, v. 105, n. 9, p. 1093-1098, 2002.
- HEILS, A. et al. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. **J. Neurochem.**, v. 66, n. 6, p. 2621-2624, 1996.
- HEISLER, L. K. et al. Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. **Neuron.**, v. 51, n. 2, p. 239-249, 2006.
- HINNEY, A. et al. Genome Wide Association (GWA) study for early onset extreme obesity supports the role of fat mass and obesity associated gene (*FTO*) variants. **PLoS One**, v. 2, n. 12, p. 1361, 2007.
- HOTTA, K. et al. Variations in the *FTO* gene are associated with severe obesity in the Japanese. **J. Hum. Genet.**, v. 53, n. 6, p. 546-553, 2008.
- HUANG, X. et al. Association between *FTO* gene polymorphism (rs9939609 T/A) and cancer risk: a meta-analysis. **Eur. J. Cancer Care**, v. 1, p. e12464, 2016.
- IP, E.H. et al. Determinants of Adiposity Rebound Timing in Children. **J. Pediatr.**, v. 184, p. 151-156, 2017.
- IRBY, M. et al. Motivational interviewing in a family-based pediatric obesity program: a case study. **Fam. Syst. Health**, v. 28, n. 3, p. 236-246, 2010.
- JOHAR, D.R.; BERNSTEIN, L.H. Biomarkers of stress-mediated metabolic deregulation in diabetes mellitus. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, v. 126, p. 222-229, 2017.
- JONSSON, A. et al. Assessing the effect of interaction between an *FTO* variant (rs9939609) and physical activity on obesity in 15,925 Swedish and 2,511 Finnish adults. **Diabetologia**, v. 52, n. 7, p. 1334-8. 2009.
- JUNQING, W. et al. Association of *FTO* Polymorphisms with Obesity and Metabolic Parameters in Han Chinese Adolescents. **PLoS One**, v. 9, n. 6, p. e98984, 2014.
- JUONALA, M. et al. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. **N. Engl. J. Med.**, v. 365, n. 20, p. 1876-1885, 2011.

KEANE, E., et al. Physical Activity, Sedentary Behaviour and the Risk of Overweight and Obesity in School Aged Children. **Pediatr. Exerc. Sci.**, v. 7, p. 1-27, 2017.

KELISHADI, R.; AZIZI-SOLEIMAN, F. Controlling childhood obesity: A systematic review on strategies and challenges. **J. Res. Med. Sci.**, v. 19, n. 10, p. 993–1008, 2014.

KELLY, A. S. et al. Severe obesity in children and adolescents: identification, associated health risks, and treatment approaches: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 128, n. 15, p. 1689-1712, 2013.

KLIMENTIDIS, Y. C. et al. Associations of obesity genes with obesity-related outcomes in multiethnic children. **Arch. Med. Res.**, v. 42, n. 6, p. 509-514, 2011.

KLÖTING, N. et al. Inverse relationship between **obesity** and *FTO* gene expression in visceral adipose tissue in humans. **Diabetologia**, v. 51, n. 4, p. 641-647, 2008.

KOHATSU, N. D. et al. Sleep duration and body mass index in a rural population. **Arch. Intern. Med.**, v. 166, n. 16, p. 1701-1705, 2006.

KOJIMA, M. et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, v. 402, n. 6762, p. 656-60, 1999.

KOUSTA, E. et al. Pleiotropic genetic syndromes with developmental abnormalities associated with obesity. **Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism**, v. 22, p. 581-592, 2009.

KRIPKE, D. F. et al. Mortality associated with sleep duration and insomnia. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 59, n. 2, p. 131-136, 2002.

KUMAR, S.; KELLY, A. S. Review of Childhood Obesity: From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. **Mayo Clin. Proc.**, v. 92, n. 2, p. 251-265, 2017.

LABAYEN, I. et al. Association between the *FTO* rs9939609 polymorphism and leptin in European adolescents: a possible link with energy balance control. The HELENA study. **Int. J. Obes.**, v. 35, n. 1, p. 66-71, 2011.

LAINSCAK, M. et al. Ghrelin and neurohumoral antagonists in the treatment of cachexia associated with cardiopulmonary disease. **Intern. Med.**, v. 45, n. 13, p. 837, 2006.

LAKSHMAN, R.; ELKS, C. E.; ONG, K. K. Childhood obesity. **Circulation**, v. 126, n. 14, p. 1770-1779, 2012.

LAW, C. et al. A pragmatic evaluation of a family-based intervention for childhood overweight and obesity. **NIHR Journals Library**, v. 2, n. 5, 2014.

LEIN, E. S. et al. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. **Nature**, v. 445, p. 168-176, 2007.

- LEINNINGER, G. M. et al. Leptin action via neurotensin neurons controls orexin, the mesolimbic dopamine system and energy balance. **Cell Metab.**, v. 14, n. 3, p. 313-223, 2011.
- LIM, B. K. et al. Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens. **Nature**, v. 487, n. 7406, p. 183-9, 2012.
- LIU, Y.; CHEN, Y. Fat Mass and Obesity Associated Gene Polymorphism and the Risk of Polycystic Ovary Syndrome: A Meta-analysis. **Iran J. Public Health**, v. 46, n.1, p. 4-11, 2017.
- LLEWELLYN, C. H. et al. Finding the missing heritability in pediatric obesity: the contribution of genome-wide complex trait analysis. **Int. J. Obes.**, v. 37, n. 11, p. 1506–1509, 2013.
- LOBSTEIN, T.; BAUR, L.; UAUY, R. Obesity in children and young people: a crisis in public health. **Obesity Reviews**, v. 5, p. 4-104, 2004.
- LÓPEZ, P. P. et al. Development of a sleeve gastrectomy weight loss model in obese Zucker rats. **J. Surg. Res.**, v. 157, n. 2, p. 243-50, 2009.
- LOSS, R. J.; GILES, S. H. The bigger picture of *FTO* – the first GWAS-identified obesity gene. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 10, n. 1, p. 51-61, 2014.
- LOW, S. et al. Rationale for redefining obesity in Asians. **Ann. Acad. Med.**, v. 38, p. 66–74, 2009.
- LU, Y.; LOOS, R. J. Obesity genomics: assessing the transferability of susceptibility loci across diverse populations. **Genome Med.**, v. 5, n. 6, p. 55, 2013.
- LUDER, E.; MELNIK, T. A.; DIMAIO, M. Association of being overweight with greater asthma symptoms in inner city black and Hispanic children. **J. Pediatr.**, v. 132, n. 4, p. 699-703, 1998.
- LUSTIG, R. H. The neuroendocrinology of childhood obesity. **Pediatr. Clin. North. Am.**, v. 48, n. 4, p. 909-930, 2001.
- MAFFEIS, C.; MORANDI, A. Effect of Maternal Obesity on Foetal Growth and Metabolic Health of the Offspring. **Obes Facts.**, v. 10, n. 2, p.112-117, 2017.
- MARQUES-LOPES, I. et al. Genetics of obesity. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 3, p. 327-338, 2004.
- MARTINEZ, V. G.; O'DRISCOLL, L. Neuromedin U: a multifunctional neuropeptide with pleiotropic roles. **Clin. Chem.**, v. 61, n. 3, p. 471-82, 2015.
- MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A. et al. Genetics of Obesity. **Public Health Nutrition**, v. 10, n. 10, p.1138-1144, 2007.
- MATHUR, P.; DAS, M. K.; ARORA, N. K. Non-alcoholic fatty liver disease and childhood obesity. **Indian J. Pediatr.**, v. 74, n. 4, p. 401-407, 2007.

MATSUDO, S. A.; PASCHOAL, V. C. A.; AMANCIO, O. M. S. Atividade física e sua relação com o crescimento e a maturação biológica de crianças. **Cadernos de Nutrição**, v. 14, p. 1-12, 2003.

MEAD, E. et al. Drug interventions for the treatment of obesity in children and adolescents. **Cochrane Database Syst. Rev.**, v. 11, p. CD012436, 2016.

MEI, H. et al. Longitudinal replication studies of GWAS risk SNPs influencing body mass index over the course of childhood and adulthood. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31470, 2012.

MELDRUM, D. R.; MORRIS, M. A.; GAMBONE, J. C. **Obesity** pandemic: causes, consequences, and solutions-but do we have the will? **Fertil. Steril.**, v. 107, n. 4, p. 833-839, 2017.

MELLO, E. D.; LUFT, V. C.; MEYER, F. Obesidade infantil: como podemos ser eficazes? **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 3, p. 173-182, 2004.

MENG, X. R. et al. Association study of childhood obesity with eight genetic variants recently identified by genome-wide association studies. **Pediatr. Res.**, v. 76, n. 3, p. 310-5, 2014.

MERKESTEIN, M. et al. *FTO* influences adipogenesis by regulating mitotic clonal expansion. **Nature Communications**, v. 6, p. 6792, 2015.

Ministério da Saúde. Caderno de Atenção Básica. **Obesidade**, n. 12, 2009.

MIRANDA, R. C. K. et al. Biallelic and triallelic approaches of 5-HTTLPR polymorphism are associated with food intake and nutritional status in childhood. **J. Nutr. Biochem.**, v. 43, p. 47-52, 2017.

MONTEIRO, C. A. et al. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: MONTEIRO, C.A. Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e de suas doenças. **Hucitec**, v. 29, n. 6, p. 247-255, 1995.

MORRIS, R. W.; KAPLAN, N. L. On the advantage of haplotype analysis in the presence of multiple disease susceptibility alleles. **Genetic Epidemiology**, v. 23, p. 221-233, 2002.

MÜLLER T. D. et al. Ghrelin and its potential in the treatment of eating/wasting disorders and cachexia. **J. Cachexia Sarcopenia Muscle**, v. 1, n. 2, p. 159-167, 2010.

MÜLLER, T. D. et al. Ghrelin. **Mol. Metab.**, v. 4, n. 6, p. 437-60, 2015.

NAKAZATO, M. et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. **Nature**, v. 409, n. 6817, p. 194-8, 2001.

NAMJOU, B. et al. EMR-linked GWAS study: investigation of variation landscape of loci for body mass index in children. **Frontiers in Genetics**, v. 4, p. 268, 2013.

NELSON, S. M.; FLEMING, R. Obesity and reproduction: impact and interventions. **Curr. Opin. Obstet. Gynecol.**, v. 19, n. 4, p. 384-389, 2007.

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; CALDWELL, S. H. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. **Hepatology**, v. 38, n. 2, p. 536, 2003.

NIKOLOPOULOU, A; KADOGLOU, N. P. Obesity and metabolic syndrome as related to cardiovascular disease. **Expert Rev. Cardiovasc. Ther.**, v. 10, n. 7, p. 933–939, 2012.

OGDEN, C. L. et al. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. **JAMA**, v. 311, n. 8, p. 806-814, 2014.

OMS – Organização Mundial da Saúde. Obesity: Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents: Growth reference 5-19 years. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, p. 660-667, 2007.

OMS – Organização Mundial da Saúde. Consideration of the evidence on childhood obesity for the commission on ending childhood obesity. **Geneva (CHE)**, 2016.

OMS – Organização Mundial da Saúde. Estimated overweight & obesity show. **WHO Global Infobase**, 2002, 2005, 2010.

OMS – Organização Mundial da Saúde. Prevalence of obesity, ages 18+, 1975-2014. **Global Health Observatory (GHO)**, 2016.

OTTAWAY, N. et al. Diet-induced obese mice retain endogenous leptin action. **Cell Metab.**, v. 21, n. 6, p. 877-882, 2015.

OTTO, B. et al. Postprandial ghrelin release in anorectic patients before and after weight gain. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 6, p. 577-81, 2005.

OTTO, B. et al. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 145, n. 5, p. 669-73, 2001.

PADILHA, P. C. et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in obese children and adolescents: a systematic review. **Rev. Paul. Pediatr.**, v. 28, n. 4, p. 387-393, 2010.

PAPANDREOU, D.; ROUSSO, I.; MAVROMICHALIS, I. Update on non-alcoholic fatty liver disease in children. **Clin. Nutr.**, v. 26, n. 4, p. 409-415, 2007.

PAPATHANASOPOULOS, A. et al. A preliminary candidate genotype-intermediate phenotype study of satiation and gastric motor function in obesity. **Obesity**, v. 18, n. 6, p. 1201-1211, 2010.

PEETERS, A. et al. Variants in the FTO gene are associated with common obesity in the Belgian population. **Mol. Genet. Metab.**, v. 93, n. 4, p. 481-4, 2008.

PEINO, R. et al. Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 143, n. 6, p. 11-14, 2000.

PELEGRINI, A. et al. Indicadores antropométricos de obesidade na predição de gordura corporal elevada em adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 1, p. 56-62, 2015.

POPKIN, B. M. Global nutrition dynamics: the world is shifting rapidly toward a diet linked with noncommunicable diseases. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 84, n. 2, p. 289-298, 2006.

PRICE R. A.; LI, W. D.; ZHAO, H. *FTO* gene SNPs associated with extreme obesity in cases, controls and extremely discordant sister pairs. **BMC Med. Genet.**, v. 9, p. 4, 2008.

PRZELIORZ-PYSZCZEK, A.; REGULSKA-IIOW, B. The role of macronutrient intake in reducing the risk of obesity and overweight among carriers of different polymorphisms of *FTO* gene. A review. **Rocz Panstw Zakl Hig**, v. 68, n. 1, p. 5-13, 2017.

QIAN, Y. et al. Genetic variant in fat mass and obesity-associated gene associated with type 2 diabetes risk in Han Chinese. **BMC Genetics**, v. 14, p. 86, 2013.

RAJJO, T. et al. Treatment of Pediatric Obesity: An Umbrella Systematic Review. **J Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 102, n. 3, p. 763-775, 2017.

RAMOS, R. B.; SPRITZER, P. M. *FTO* gene variants are not associated with polycystic ovary syndrome in women from Southern Brazil. **Gene**, v. 560, n. 1, p. 25-29, 2015.

RAMYA, K. et al. Genetic variations in the *FTO* gene are associated with type 2 diabetes and obesity in south indians (CURES-79). **Diabetes Technol. Ther.**, v. 13, n. 1, p. 33-42, 2011.

RAO, K. R.; LAL, N.; GIRIDHARAN, N. V. Genetic & epigenetic approach to human obesity. **Indian J. Med. Res.**, v. 140, n. 5, p. 589-603, 2014.

RAZAK, F. et al. Defining obesity cut points in a multiethnic population. **Circulation**, v. 115, p. 2111–2118, 2007.

REILLY, J.J.; MARTIN, A.; HUGHES, A.R. Early-Life Obesity Prevention: Critique of Intervention Trials During the First One Thousand Days. **Curr. Obes. Rep.**, v. 6, n. 2, p. 127-133, 2017.

RILEY, D. J.; SANTIAGO, T.; EDELMAN, N. H. Complications of obesity–hypoventilation syndrome in childhood. **Am. J. Dis. Child.**, v. 130, n. 6, p. 671-674, 1976.

RODRIGUES, A. N. et al. Cardiovascular risk factor investigation: a pediatric issue. **Int. J. Gen. Med.**, v. 6, p. 57–66, 2013.

RODRIGUEZ, M. A. et al. Identification of population subgroups of children and adolescents with high asthma prevalence: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Arch. Pediatr. Adolesc. Med.**, v. 156, n. 3, p. 269-275, 2002.

ROLA, M. G.; FERREIRA, L. B. Polimorfismos genéticos associados à hipertensão arterial sistêmica. **Univ. Ci. Saúde**, v. 6, n. 1, p. 57-68, 2008.

ROSENBAUM, M. et al. Low dose leptin administration reverses effects of sustained weight-reduction on energy expenditure and circulating concentrations of thyroid hormones. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, n. 5, p. 2391-2394, 2002.

ROTTER, I. et al. Relationships between *FTO* rs9939609, *MC4R* rs17782313, and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms and the occurrence of selected metabolic and hormonal disorders in middle-aged and elderly men - a preliminary study. **Clin. Interv. Aging.**, v. 11, p. 1723-1732, 2016.

SAMBROOK; J.; FRITSCHI, E. F.; MANIATIS, T. Molecular cloning: a laboratory manual. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 4, 1989.

SATO, S. et al. Central control of bone remodeling by neuromedin U. **Nat. Med.**, v. 13, n. 10, p. 1234-40, 2007.

SCHEELE C.; NIELSEN, S. Metabolic regulation and the anti-obesity perspectives of human brown fat. **Redox. Biol.**, v. 12, p. 770-775, 2017.

SCHWIMMER, J. B. et al. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. **J. Pediatr.**, v. 143, n. 4, p. 500-505, 2003.

SCOTT, M. M. et al. Leptin targets in the mouse brain. **J. Comp. Neurol.**, v. 514, n. 5, p. 518-532, 2009.

SCUTERI, A. et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the *FTO* gene are associated with obesity-related traits. **PLoS Genet.**, v. 3, n. 7, p. 115, 2007.

SEKINE, M. et al. A dose-response relationship between short sleeping hours and childhood obesity: results of the Toyama Birth Cohort Study. **Child Care Health Dev.**, v. 28, n. 2, p. 163-170, 2002.

SEOANE, L. M. et al. Ghrelin elicits a marked stimulatory effect on GH secretion in freely-moving rats. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 143, n. 5, p. 7-9, 2000.

SHAO, A. et al. Optimal nutrition and the ever-changing dietary landscape: a conference report. **Eur. J. Nutr.**, v. 56, n. 1, p. 1-21, 2017.

SLOBODA, D. M. et al. Age at menarche: Influences of prenatal and postnatal growth. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 92, n. 1, p. 46-50, 2007.

SMEMO, S. et al. Obesity-associated variants within *FTO* form long-range functional connections with *IRX-3*. **Nature**, v. 507, n. 7492, p. 371-375, 2014.

SOHN, J. W. et al. Melanocortin 4 receptors reciprocally regulate sympathetic and parasympathetic preganglionic neurons. **Cell.**, v. 152, n. 3, p. 612-9, 2013.

SOOKOIAN, S. et al. Serotonin and serotonin transporter gene variant in rotating shift workers. **Sleep.**, v. 30, n. 8, p. 1049-53, 2007.

SOUSA, A. K. P. et al. Estratégias para o tratamento da obesidade infantil. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v.2, n.12, p.577-583, 2008.

SPEAKMAN, J. R. The 'Fat Mass and Obesity Related' (FTO) gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. **Curr. Obes. Rep.**, v. 4, n. 1, p. 73-91, 2015.

SPILGELMAN, B. M.; FLIER, J. S. Obesity and the regulation of energy balance. **Cell**, v. 104, n. 4, p. 531-543, 2001.

SRIVASTAVA, A. et al. Association of *FTO* and *IRX3* genetic variants to obesity risk in north India. **Ann. Hum. Biol.**, v. 43, n. 5, p. 451-456, 2016.

STRATIGOPOULOS, G. et al. Hypomorphism of *FTO* and *Rpgrip1l* causes obesity in mice. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 5, p. 1897-1910, 2016.

STRATIGOPOULOS, G. et al. Regulation of *FTO/Ftm* gene expression in mice and humans. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 294, n. 4, p. 1185-1196, 2008.

TAHERI, S. et al. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. **PLoS Med**, v. 1, n. 3, p. 62, 2004.

TALMOR, A.; DUNPHY, B. Female Obesity and Infertility. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 29, n. 4, p. 498-506, 2015.

TANG, Y. et al. MeQTL analysis of **childhood obesity** links epigenetics with a risk SNP rs17782313 near **MC4-R** from meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 2800-2806, 2017.

THEANDER-CARRILLO, C. et al. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. **J. Clin. Invest.**, v. 116, n. 7, p. 1983-93, 2006.

THOMAS, F. et al. International variability of ages at menarche and menopause: Patterns and main determinants. **Hum. Biol.**, v. 73, p. 271-290, 2001.

TIMPSON, N. J. et al. The fat mass- and obesity-associated locus and dietary intake in children. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 88, n. 4, p. 971-978, 2008.

TROIANO, R. P. et al. Overweight prevalence and trends for children and adolescents. The National and Nutrition Examination Surveys, 1963 to 1991. **Arch. Pediatr. Adolesc. Med.**, v. 149, p. 1085-1091, 1995.

TSCHÖP, M. et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. **Diabetes**, v. 50, n. 4, p. 707-9, 2001.

TUNG, Y. C. et al. Obesity and *FTO*: Changing Focus at a Complex Locus. **Cell Metabolism**, v. 20, n. 5, p. 710-718, 2014.

VELLOSO, L. A. The hypothalamic control of feeding and thermogenesis implications on the development of obesity. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 165-176, 2006.

VIDEIRA-SILVA, A.; FONSECA, H. The effect of a physical activity consultation on body mass index z-score of overweight adolescents: results from a pediatric outpatient obesity clinic. **Eur. J. Pediatr.**, v. 176, n. 5, p.655-660, 2017.

VIOQUE, J.; TORRES, A.; QUILES, J. Time spent watching television, sleep duration and obesity in adults living in Valencia, Spain. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 24, n. 12, p. 1683-1688, 2000.

VOLLBACH, H. et al. Prevalence and phenotypic characterization of *MC4-R* variants in a large pediatric cohort. **Int. J. Obes.**, v. 41, n. 1, p. 13-22, 2017.

VORONA, R. et al. Overweight and obese patients in a primary care population report less sleep than patients with a normal body mass index. **Arch. Inter. Med.**, v. 165, n. 1, p. 25-30, 2005.

VOTSI, C. et al. Type 2 diabetes susceptibility in the greek-cypriot population: replication of associations with *TCF7L2*, *FTO*, *HHEX*, *SLC30A8* and *IGF2BP2* polymorphisms. **Genes (Basel)**, v. 8, n. 1, p. 16, 2017.

WANG, Y. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls. **Pediatrics**, v. 110, n. 5, p. 903-910, 2002.

WANG, Y.; MONTEIRO, C. A.; POPKIN, B. M. Trend of obesity and underweight in older children e adolescents in the USA, Brazil, China and Russia. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 75, n. 6, p. 971-977, 2002.

WASIM, M. et al. Role of Leptin Deficiency, Inefficiency, and Leptin Receptors in Obesity. **Biochem. Genet.**, v. 54, n. 5, p. 565-572, 2016.

WELLS, J.C. Body composition and susceptibility to type 2 diabetes: an evolutionary perspective. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 29, 2017.

WILLIAMS, C. L.; GULLI, M. T.; DECKELBAUM, R. J. Prevention and treatment of childhood obesity. **Curr. Atheroscler. Rep.**, v. 3, n. 6, p. 486-497, 2001.

WILLIG, A. L. et al. Adjusting adiposity and body weight measurements for height alters the relationship with blood pressure in children. **Am. J. Hypertens.**, v. 23, n. 8, p. 904-910, 2010.

WISNIEWSKI, S. L. Childhood obesity among the poor in Peru: Are there implications for cognitive outcomes? **Econ. Hum. Biol.**, v. 26, p. 51-60, 2017.

WURTMAN, R. J.; WURTMAN, J. J. Brain serotonin, carbohydrate-craving, obesity and depression. **Obes. Res.**, v. 3, n. 4, p. 477-480, 1995.

XIAO, S. et al. Correlation between polymorphism of *FTO* gene and type 2 diabetes mellitus in Uygur people from northwest China. **Int. J. Clin. Exp. Med.**, v. 8, n. 6, p. 9744-9750, 2015.

XIAO, S. et al. Gene polymorphism association with type 2 diabetes and related gene-gene and gene-environment Interactions in a Uyghur population. **Med. Sci. Monit.**, v. 22, p. 474-487, 2016.

YAJNIK, C. S. et al. *FTO* gene variants are strongly associated with type 2 Diabetes but only weakly with Obesity in South Asian Indians. *Diabetologia*, v. 52, n. 2, p. 247-252, 2009.

YUKAWA, M. et al. Effect of aging on the response of ghrelin to acute weight loss. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 54, n. 4, p. 648-53, 2006.

ZENG, X. et al. Association of *FTO* Mutations with Risk and Survival of Breast Cancer in a Chinese Population. **Dis. Markers**, v. 2015, p. 101032, 2015.

ZHANG, N.; DU, S.; MA G.S. Current lifestyle factors that increase risk of T2DM in China. **Eur. J. Clin. Nutr.**, 2017.

ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, p. 425–432, 1994.

ZORRILLA, E. P. et al. Vaccination against weight gain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 103, n. 35, p. 13226-31, 2006.

ZOU, Z. C. et al. Effect of exercise combined with dietary intervention on obese children and adolescents associated with the *FTO* rs9939609 polymorphism. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, v. 19, p. 4569-4575, 2015.

ZUO, L.; WANG, K.; LUO, X. Use of diplotypes – matched haplotype pairs from homologous chromosomes – in gene-disease association studies. **Shanghai Arch. Psychiatry**, v. 26, n. 3, p. 165–170, 2014.

APÊNDICE A - Questionário

“INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE GENES ENVOLVIDOS NA OBESIDADE INFANTIL”

Classificação: <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> sobrepeso <input type="checkbox"/> obeso <input type="checkbox"/> síndrome metabólica

1. Identificação

Nome do participante: _____ DN: ____/____/____

Sexo: Feminino (___) Masculino (___)

Nome do Pai: _____

Nome da Mãe: _____

Endereço/telefone: _____

2. Dados Clínicos

2.1 Peso: _____kg Altura: _____m IMC: _____Kg/m²

Circunferência de cintura _____ % gordural corporal _____

2.2 Acantose nigricans () Sim () Não

2.3 Exames laboratoriais:

Glicemia _____ Insulina _____

Colesterol Total _____ HDL _____ LDL _____ VLDL _____ Triglicérides _____

2.4 Pressão arterial _____

2.5 Estadiamento puberal: _____

2.5 Pratica alguma atividade física? Sim (___) Não (___) Se sim, qual, com que frequência e há quanto tempo?

3. História Gestacional

3.1 Parto? Normal (___) Cesariana (___)

3.2 Peso e comprimento ao nascimento: _____

3.3 Duração da gestação (semanas): _____

3.5 A mãe teve complicações durante a gravidez? Sim (___) Não (___) Se sim, quais?

3.6 A mãe teve acompanhamento nutricional durante a gravidez? Sim (___) Não (___)

Por quanto tempo: _____

3.7 A mãe teve outras gestações? _____ Quantas? _____ Apresentou complicações, quais?

4. Histórico familiar

4.1 A mãe é obesa? Sim (___) Não (___) Altura _____ Peso _____ (momento da consulta)

4.2 O Pai é obeso? Sim (___) Não (___) Altura _____ Peso _____ (momento da consulta)

4.3 Há casos de obesidade na família? Sim (___) Não (___) Se sim, quem?

5. Desenvolvimento

5.1 A partir de qual idade o participante começou apresentar excesso de peso?

5.2 Até que idade a criança foi amamentada? _____

5.3 Motivo da suspensão da amamentação? _____

5.4 Como é a alimentação do participante? Ingestão de alimentos calóricos em excesso:
Café/ Lanche/ Almoço/ Lanche tarde/ Jantar/ Ceia)

5.5 Quais são os alimentos preferidos?

5.6 Faz quantas refeições por dia, contando os lanches? _____

5.7 O participante apresenta irritabilidade quando está com fome? Sim (___) Não (___)

5.8 O participante apresenta dificuldade para dormir? Sim (___) Não (___) Se sim, que tipo?

5.9 Quantos horas, em média, o participante dorme por dia? _____

5.10 Apresenta algum problema de saúde? Sim (___) Não (___) Se sim, qual?

5.11 Faz tratamento com algum remédio? Sim (___) Não (___) Se sim, qual?

5.12 Que doenças já teve ou tem? _____

5.13 Frequenta escola? (___) Sim (___) Não

Se sim, na escola a criança acompanha bem o conteúdo? Sim (___) Não (___)

Obs: _____

5.14 Já repetiu de ano? Sim (___) Não (___) Se sim, quantas vezes e por que?

5.15 Informações Adicionais (ex.irmãos? histórico de síndromes na família?):

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(TCLE – Grupo controle)

TÍTULO DO PROJETO: “**INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE GENES ENVOLVIDOS NA OBESIDADE INFANTIL**”.

JUSTIFICATIVA E OS OBJETIVOS DA PESQUISA:

A prevalência da obesidade vem crescendo de forma expressiva no mundo todo, chegando a ser considerada, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como a maior epidemia de saúde pública e um fator de risco para várias outras patologias importantes, como diabetes e hipertensão. A realização de estudos para investigação de fatores genéticos associados à obesidade são importantes, sabendo que vários genes têm influência sobre esta condição. Por isso, o(a) Sr(a). está sendo convidado(a) a participar, de maneira voluntária, do projeto de pesquisa: “*INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE GENES ENVOLVIDOS NA OBESIDADE INFANTIL*”. Nesta pesquisa há necessidade de comparar os dados das crianças/adolescentes com obesidade infantil com um grupo controle. Como você refere que não teve obesidade durante a infância/adolescência, está sendo convidado(a) a participar do grupo controle deste trabalho, que tem como objetivo investigar a contribuição de fatores genéticos para o desenvolvimento dessa doença.

PROCEDIMENTOS QUE SERÃO REALIZADOS E RISCOS:

Você responderá um questionário sobre a sua condição, histórico familiar, entre outros dados a serem analisados nessa pesquisa. Serão coletados de 10 ml de sangue (uma única vez, a menos que ocorra algum problema com o processamento da amostra que exija uma coleta). As amostras serão coletadas e analisadas no Laboratório de Genética Humana e Molecular. Não será feito nenhum procedimento que traga risco a você. Você poderá ter algum desconforto na coleta de sangue, que será minimizado, pois a coleta será executada por profissional capacitado.

BENEFÍCIOS ESPERADOS:

Este projeto de pesquisa não oferece benefícios diretos a você. O benefício principal da participação neste é possibilitar que no futuro, os resultados alcançados com esta pesquisa possam auxiliar no diagnóstico e tratamento desta doença, beneficiando as crianças/adolescentes com obesidade infantil.

BASES DA PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA, CONFIDENCIALIDADE E CUSTOS:

Você entende que teve o direito de recusar a sua participação neste projeto. Você poderá obter todas as informações que quiser e retirar seu consentimento a qualquer momento. Pela participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. O seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois será identificado com um número.

AUTORIZAÇÃO PARA ARMAZENAMENTO E USO DO MATERIAL BIOLÓGICO:

Autorizo o armazenamento do restante do meu material biológico e concordo com sua utilização em possíveis desdobramentos deste projeto de pesquisa.

Autorizo

Não autorizo

Ressaltamos que caso haja a necessidade de novos estudos, será necessária a aprovação prévia do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Instituição.

ANEXO A - Parecer Cosubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)/UFTM



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE GENES ENVOLVIDOS NA OBESIDADE INFANTIL

Pesquisador: Roseane Lopes da Silva Grecco

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 50100915.9.0000.5154

Instituição Proponente: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.321.825

Apresentação do Projeto:

Segundo os pesquisadores:

"A prevalência da obesidade vem crescendo de forma expressiva no mundo todo, chegando a ser considerada, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como a maior epidemia de saúde pública do mundo. É determinada clinicamente por Spilgeman e Flier (2001) como um estado de aumento do peso corporal, mais especificamente do tecido adiposo, em dimensões suficientes para gerar consequências adversas à saúde. Para a Associação Brasileira de Estudos Sobre a Obesidade (ABESO), a obesidade é definida como o acúmulo de tecido gorduroso localizado ou generalizado, provocado por desequilíbrio nutricional associado ou não a distúrbios genéticos ou endocrinometabólicos.

A deposição de gordura na região abdominal (caracterizada como obesidade abdominal visceral) é o maior fator de risco (no grau de severidade) cardiovascular e de distúrbio na homeostase glicose-insulina. É associada, também, à hipertensão, dislipidemias, diabetes, fibrinólise, aceleração da progressão da aterosclerose e fatores psicossociais (DESPRÉS, 1993; BJÖRNTORP, 1997; GRUNDY, 1999; LAKKA et al.; 2001).

Nos Estados Unidos da América (EUA), o número de obesos duplicou entre os anos de 1960 e 2002, chegando a atingir cerca de 20% da população adulta e de 15% a 25% das crianças e

Endereço: Rua Madre Maria José, 122		
Bairro: Nossa Sra. Abadia		CEP: 38.025-100
UF: MG	Município: UBERABA	
Telefone: (34)3318-5776	Fax: (34)3318-5776	E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 1.321.825

adolescentes (DAMIANI, 2002). A OMS avaliou que em 2005 o mundo teria 1,6 bilhão de pessoas acima de 15 anos de idade com excesso de peso e 400 milhões de obesos. Em 2010 a previsão para 2015 foi ainda mais pessimista: 2,3 bilhões de pessoas com excesso de peso e 700 milhões de obesos, o que mostra um aumento de 75% nos casos de obesidade em apenas 10 anos (WHO, 2002; 2005; 2010). O Brasil ocupa hoje a 77ª posição como país com o maior número de obesos, no ranking da OMS, estando bem atrás dos campeões insulares da Micronésia no Pacífico Sul: Nauru, Ilhas Cook, Estados Federados da Micronésia e Tonga. Os EUA, apesar dos dados notórios, ocupam a quinta posição e a Argentina é o país mais "obeso" na América do Sul, ficando na oitava posição (WHO, 2007; IBGE, 2010).

Dados do Manual de Orientação da Sociedade Brasileira de Pediatria (2012), mencionam que no Brasil, a má alimentação e a falta de atividade física acompanham crianças e adultos, e isto tem tomado recorrente a prevalência da obesidade em crianças a partir dos 5 anos de idade, com seu período crítico de 7 a 9 anos. E uma revisão bibliográfica realizada por Niehues et al., (2014), as regiões sul e nordeste tiveram as mais elevadas taxas de sobrepeso, 25,7% e 28,8% respectivamente, entre crianças e adolescentes de 2 a 19 anos. E as maiores taxas de obesidade nesta faixa etária foram das regiões sul e sudeste, 10,4 % e 15,4% respectivamente.

Partindo do princípio que a obesidade comum apresenta característica de uma herança multifatorial ou complexa e que tem como fenótipo o resultado da interação entre gene e o ambiente (Rosenquist et al., 2015), estudos realizados entre gêmeos monozigóticos, mostraram que a genética contribui com 40 a 70% na susceptibilidade da obesidade (ELKS et al., 2012), porém o seu surgimento vai depender da exposição desses indivíduos a fatores obesogênicos ou protetores dessa patologia. Nesse sentido, muitos genes candidatos estão sendo estudados em diferentes populações, na tentativa de relacioná-los com a obesidade (GONG et al., 2013; ALBUQUERQUE et al., 2014).

Acredita-se que alterações do comportamento alimentar e uma vida sedentária, juntamente com os genes de suscetibilidade, sejam o principal determinante do crescimento da obesidade mundial (COUTINHO, 2007). Compreender a fisiopatologia da obesidade e os processos que levam os fenômenos ambientais a interagirem com a predisposição genética para caracterizar o quadro da obesidade é um grande desafio por parte dos pesquisadores e profissionais de saúde (VELLOSO, 2006).

Outro ponto a considerar é a análise do grau de obesidade baseada no Índice de Massa Corporal (IMC). Estudos realizados entre 1980 e 1990, com gêmeos e crianças adotadas, indicaram que 80% da variação do IMC é atribuída a fatores genéticos (BOUCHARD et al., 1990; 1994). Outras análises

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
 Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
 UF: MG Município: UBERABA
 Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 1.321.825

baseadas na composição corporal de gêmeos criados separadamente e na comparação desta composição entre crianças adotadas com pais biológicos e com pais adotivos também sugerem considerável influência genética sobre a distribuição da gordura no corpo (BARNES et al., 2007). O IMC é um importante método de avaliação da obesidade, aconselhado para medida em nível populacional e na prática clínica. Este índice é estimado pela relação entre o peso e a estatura, e expresso em kg/m^2 (ANJOS, 1992). O indivíduo é considerado obeso quando seu IMC é igual ou superior a $30\text{kg}/\text{m}^2$, sendo o nível de gravidade caracterizado de acordo com o risco de outras morbidades associadas. Assim, um IMC entre $30\text{-}34,9\text{kg}/\text{m}^2$ denomina-se obesidade I, IMC entre $35\text{-}39,9\text{kg}/\text{m}^2$ denomina-se obesidade II e IMC entre $40\text{-}44,9\text{kg}/\text{m}^2$ denomina-se obesidade III (WHO, 1998).

Diversas estratégias são utilizadas para levantar os determinantes genéticos da obesidade, como estudos de associação, análises de varredura genômica (genome-wide association studies - GWAS) em formas monogênicas de obesidade e síndromes genéticas com anomalias do desenvolvimento associadas à obesidade (KOUSTA et al., 2009). Com os avanços do conhecimento da genética molecular, a diminuição dos custos e a simplificação dos métodos de genotipagem têm permitido a inclusão de estudos dos polimorfismos genéticos no auxílio do diagnóstico e no monitoramento dos pacientes obesos (ROLA et al., 2008; TARDIN et al., 2009). Polimorfismos genéticos são caracterizados como modificações genéticas não letais e ocorre quando há uma troca na sequência de bases nitrogenadas localizadas no DNA de cromossomos homólogos (ATALA; CONSOLIM-COLOMB, 2007). A população humana tem um grande número de polimorfismos já descritos, desde nucleotídeo único (SNP), bem como variação do número de cópias de nucleotídeos (CNV), e uma elevada proporção do genoma, estimada em até 12%, está sujeita a essa variação. Porém, a maior parte das variações é desvantajosa, e a mudança no número de cópias em algum gene específico pode levar a um grupo de condições patológicas conhecidas como doenças genômicas (HASTINGS et al., 2009).

A identificação de genes candidatos associados à obesidade foi, durante anos, dificultada devido a uma compreensão ainda limitada da arquitetura genética do genoma humano e as vias metabólicas envolvidas na doença (LOSS, 2012). Entretanto, atualmente são conhecidos mais de 600 genes envolvidos no controle do peso corporal e desenvolvimento da obesidade. Existem ainda inúmeros polimorfismos em genes que estão relacionados à regulação de peso corpóreo e oxidação de ácidos graxos. Mas a maior parte desses genes possui mecanismos de regulação gênica associados a fatores ambientais, como presença de determinados hormônios, dieta rica em lipoproteínas, entre outros. Esses mecanismos, em que agentes externos controlam a regulação

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
 Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
 UF: MG Município: UBERABA
 Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqg.uftm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 1.321.825

genética, são chamados epigenéticos. Estudos recentes mostram uma taxa de herdabilidade significativa, evidenciando que um indivíduo com parentes obesos tem de 30% a 70% de chance de apresentar o mesmo fenótipo (MARTINEZ-HERNANDEZ, 2006). Um estudo realizado por Damiani e colaboradores (2000) também questionou a possibilidade da existência de genes específicos como fatores condicionantes da obesidade, levando à compulsão por comida, uma vez que a etiologia da obesidade é complexa e resulta da interação entre genes, ambiente e estilo de vida.

Locke e colaboradores (2015), em um estudo de meta análise com indivíduos europeus e não-europeus, identificaram 77 locos que alcançam uma significância no genoma associado ao IMC, e são separados por pelo menos 500 kilobases (kb). Foram realizadas análises adicionais para investigar os efeitos da força e heterogeneidade. Com a inclusão de indivíduos não-europeus no estudo, identificou-se mais dez locos, enquanto análises secundárias identificaram outros dez. Finalmente, concluiu-se que 97 locos são responsáveis por 2,7% da variação fenotípica do IMC, sendo 56 recentemente identificados. Os 97 locos identificados aqui representam um passo importante na compreensão dos mecanismos fisiológicos que levam à obesidade. Esses achados reforçam a ligação entre a obesidade e outras doenças metabólicas, processos fisiológicos e vias moleculares que contribuem para a obesidade, e podem orientar futuras pesquisas que visem desvendar a complexidade desta condição.

Inúmeros estudos, nos últimos 15 anos, sugerem uma associação positiva das variantes comuns de um grande número de genes candidatos com fenótipos de obesidade ou relacionados a ela. Entretanto, os efeitos dessas variantes explicam apenas uma pequena porcentagem da variação no peso e IMC. Isso indica que a suscetibilidade à obesidade em humanos pode ser resultado dos efeitos aditivos das variantes genéticas comuns, de diferentes mutações raras em um grande conjunto de genes, ou da combinação de ambos, além dos efeitos do ambiente (CALTON et al., 2009; HINNEY et al., 2010).

Há pouco tempo, as evidências ainda eram insuficientes para explicar o aumento da expressão gênica do gene da massa de gordura e obesidade (Fat mass and obesity-associated protein - FTO) em humanos, que levam a variantes genéticas suscetíveis em FTO. Este gene está localizado no cromossomo 16 (16q12) e é um homólogo na família de proteínas Alk B e é a ademetilase mRNA primariamente identificada. Além disso, foi o primeiro gene de susceptibilidade associado à obesidade identificado por meio de estudos genômicos, e continua a ser o que apresenta maior efeito sobre o IMC e riscos de obesidade, respondendo às variedades de traços de obesidade durante toda a vida e em diversas ascendências (FRAYLING et al., 2007; SCUTERI et al., 2007; LU; LOSS, 2013).

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
 Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
 UF: MG Município: UBERABA
 Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.ufm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 1.321.825

Utilizando um conjunto de dados de 153 amostras do cerebelo de indivíduos de ascendência europeia, Smemo e colaboradores (2014) demonstraram que os portadores de polimorfismos comuns no gene FTO exibem também uma expressão cerebelar superior do gene homeobox Iroquois3 (IRX3), localizado no mesmo cromossomo que o FTO, e que sofre impactos na sua produção de proteínas quando há mutações em FTO. O estudo ainda mostra que as sequências não codificadoras associadas à obesidade dentro de FTO são funcionalmente ligadas ao gene IRX3. Experiências genéticas adicionais dos mesmos pesquisadores também revelaram que a deficiência do gene IRX3 levou a uma redução de peso de 30% em camundongos, além do não ganho de peso com uma dieta de alto teor de gordura, resistência a perturbações metabólicas, tais como diabetes, e presença de mais células de queima de energia, conhecidas como gordura marrom. Os mesmos resultados foram observados em camundongos nocaute nos quais a expressão de gene IRX3 foi bloqueada no hipotálamo, uma região do cérebro conhecida como reguladora do comportamento alimentar e balanço de energia.

A obesidade também está associada a uma resposta inflamatória crônica, caracterizada por produção anormal da adipocitocina e ativação de algumas vias de sinalização pró-inflamatórias, resultando na indução de vários marcadores biológicos de inflamação (HOTAMISLIGIL et al., 1993; SAMAD et al., 1996; SARTIPY; LOSKUTOFF, 1996; SAMAD et al., 1997; FRIED et al., 1998; BASTARD et al., 2002). Um conjunto de evidências indica a presença de uma inflamação geral na obesidade, com níveis alterados de vários fatores circulantes, tais como um aumento nos níveis plasmáticos da proteína C-reativa (PCR), Fator de Necrose Tumoral- (TNF-), interleucina-6 (IL-6), aumento do estresse oxidativo, e outros marcadores biológicos da inflamação (RIDKER et al., 1997; DAS, 2002; MOSCA, 2002; FORD, 2003; ALBERT et al., 2003; LUC et al., 2003; ENGSTROM et al., 2003), que contribuem para o desenvolvimento de resistência à insulina (RI), diabetes tipo 2, dislipidemia, esteatose hepática, hipertensão e síndrome metabólica, bem como no aumento da mortalidade, morbidade e custos em saúde (ROBERTS et al., 2000; ROBERTS et al., 2002; HOTAMISLIGIL, 2006; SHOELSEN et al., 2007; HOPPS et al., 2010).

Estudos experimentais de expressão gênica utilizando abordagens de micro-array já ressaltam que, no tecido adiposo branco de camundongos obesos, a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em processos inflamatórios foi marcadamente alterada (SOUKAS et al., 2000). Observou-se também que as variações na expressão destes genes foram essencialmente relacionadas a uma infiltração de macrófagos no tecido adiposo branco destes camundongos. Estes macrófagos são responsáveis pela maior parte do TNF- produzido na região e por uma parte importante da produção de IL-6 e de óxido nítrico sintase induzida (iNOS). Essa infiltração

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
 Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
 UF: MG Município: UBERABA
 Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



Continuação do Parecer: 1.321.825

de macrófagos também foi relatada no tecido adiposo branco de pacientes com obesidade (WEISBERG et al., 2003; XU et al., 2003; CLEMENT et al., 2004; CURAT et al., 2004; TCHOUKALOYA et al., 2004; CANCELLO et al., 2005; CINTI et al., 2005).

Outras moléculas características do tecido adiposo que estão envolvidas no controle do metabolismo de energia também regulam respostas imunes, como, por exemplo, a leptina que, além de seu papel fundamental na ingestão de alimentos e no gasto energético, também regula processos imunológicos. Camundongos ou seres humanos com deficiência de leptina podem apresentar um estado imunológico alterado. A diminuição dos níveis de leptina pode ser responsável por uma rápida imunossupressão associada (FERNANDES et al., 1978; CHANDRA, 1980; LORD et al., 1998).

Após a descoberta da ação da leptina no sistema nervoso central (SNC), alguns estudos in vitro demonstraram que ela é capaz de induzir um aumento no stress oxidativo em nível de células endoteliais, podendo estimular a secreção de TNF- e IL-6, ocasionando, assim, a disfunção endotelial (BOULLOUMIE et al., 1999; BULLO et al., 2003).

Caracterizada estruturalmente como uma citocina, a leptina é produzida principalmente pelo tecido adiposo branco diretamente relacionado à massa corporal deste tecido. É um peptídeo constituído por 146 aminoácidos, sendo um dos produtos do gene *ob*, e secretada na circulação até ligar-se a um de seus receptores, encontrados em diversos tecidos e que podem ser divididos em três classes: longos, curtos e solúveis. No entanto, somente a forma longa possui todos os domínios necessários para a transdução total do sinal de ligação da leptina, sendo que a forma longa é prevalente no hipotálamo. A leptina tem por via de sinalização a via JAK2/STAT3. A forma longa do receptor é continuamente ligada à proteína Janus quinase-2 (JAK2), com atividade da tirosina quinase. A ligação da leptina ao receptor promove a fosforilação da tirosina de JAK2, seguida de ativação de proteínas da transdução de sinal, dentre as quais a STAT3, que, no núcleo, regula a expressão de genes de neurotransmissores e proteínas. (ZHANG et al., 1994; TARTAGLIA et al., 1995; KOERNER et al., 2005; FRIEDMAN, 2009; VAN DE SANDE-LEE et al., 2012). Há correlação entre a massa de tecido adiposo e a quantidade de leptina circulante no organismo, de forma que, quanto mais massa adiposa, maior a concentração de leptina plasmática. Esta citocina funciona como um sensor do balanço energético, visto que alterações fisiológicas podem afetar a relação entre leptina e tecido adiposo. Além disso, possui um ritmo de secreção pulsátil e circadiano, sendo comuns picos noturnos de secreção. É possível observar, ainda, considerável sincronidade nos ritmos pulsáteis da leptina e insulina, e sugere-se que haja modulação positiva entre ambas no hipotálamo, por inter-relação entre as vias de sinalização. Observações nas

Endereço: Rua Madre Maria José, 122		CEP: 38.025-100
Bairro: Nossa Sra. Abadia		
UF: MG	Município: UBERABA	
Telefone: (34)3318-5776	Fax: (34)3318-5776	E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG



Continuação do Parecer: 1.321.825

alterações de concentração plasmática de insulina e leptina indicam, ainda, influência da insulina no controle da secreção da leptina (FRIEDMAN; HALLAS, 1998; NEGRÃO; LICÍNIO, 2000; CARVALHEIRA et al., 2001; YILDIZ; HAZNEDAROGLU, 2006; BENATTI et al., 2007).

A insulina, sintetizada nas ilhotas pancreáticas de Langerhans, têm efeitos anabólicos clássicos. No metabolismo da glicose, estimula o transporte de glicose nos tecidos periféricos e promove a síntese de glicogênio, ao passo que estimula a síntese proteica e inibe a lipólise. No entanto, sua ação sobre o hipotálamo produz efeitos catabólicos, similares aos da leptina, conferindo à insulina papel importante na regulação da ingestão alimentar e adiposidade corporal (PORTE et al., 2005).

Assim como a leptina, a insulina age no núcleo arqueado do hipotálamo, mas também em outras áreas cerebrais. A via de sinalização da insulina é a via PIP3 (fosfatidilinositol trifosfato), advinda de fosforilações sucessivas de subprodutos sequenciais, que se iniciam após a ligação da insulina à porção extracelular de seu receptor, seguida da autofosforilação da subunidade intracelular. Tanto a leptina quanto a insulina fornecem importante ligação com o cérebro, sendo que no núcleo arqueado hipotalâmico há receptores para ambas. A insulina produz seus efeitos nas mesmas subpopulações neuronais que a leptina e de maneira similar, mas são opostas no que se refere ao controle do balanço energético, diminuindo a ingestão alimentar e aumentando o gasto calórico (STOCKHORST et al., 2004; VAN DE SANDE-LEE et al., 2012). É importante ressaltar que o fato de a leptina e a insulina exercerem controles predominantes sobre vias diferentes, há implicações sobre o próprio padrão de regulação temporal da fome. A insulina tem um efeito inibitório mais imediato sobre a fome, enquanto a leptina tem um efeito mais potente, porém mais tardio. Atuando especialmente sobre o ritmo de disparos, era de se esperar que a insulina desempenhasse controle sobre fenômenos mais imediatos, ao passo que a leptina, controlando predominantemente a transcrição gênica, deveria coordenar fenômenos mais duradouros (VELLOSO, 2006).

Na criança tem-se observado parâmetros inflamatórios elevados, tais como IL-6, IL-8, TNF-, IFN-, MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1) e conjunto de monócitos ativados, com relatos de aumento no nível de proteína C reativa (PCR) também (SKIMER et al., 2010; VALLE et al., 2005; UTSAL et al., 2012). Outro fato é que proteínas anti-inflamatórias, como a adipocina e a adiponectina, têm seus níveis reduzidos em crianças obesas comparadas às com peso normal (TAM et al., 2010; UTSAL et al., 2012; BRESLIN et al., 2012; SCHIPPER et al., 2012). Desta forma, as adipocitocinas estão envolvidas na regulação de várias funções, incluindo o apetite, sensibilidade à insulina, angiogênese, pressão arterial e à resposta imune (MAURY; BRICHARD, 2010). Sendo assim, doenças decorrentes das complicações oriundas da obesidade tais como a cardiovascular,

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
UF: MG Município: UBERABA
Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



Continuação do Parecer: 1.321.825

diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólica e vários tipos de câncer estão ligadas a dislipidemia, hiperglicemia, hipertensão e reação pró-inflamatória (DE FERRANTI; OSGANIAN, 2007)."

PERGUNTAS DA PESQUISA

- "1.Existem polimorfismos em genes relacionados à obesidade?
- 2.Existe associação de polimorfismos genéticos com obesidade infantil? "

Objetivo da Pesquisa:

Segundo os pesquisadores:

- "1.Identificar polimorfismos em genes relacionados à obesidade infantil.
- 2.Associar os polimorfismos em genes relacionados à obesidade infantil."

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores:

"Não há outros riscos envolvendo os pacientes a não ser o da perda de confiabilidade, que será resolvido de acordo com o exposto acima.

Identificando genes que contribuam para o desenvolvimento da obesidade, as crianças e adolescentes poderão se beneficiar com um acompanhamento médico específico e orientação precoce (alimentação equilibrada, exercícios físicos, acompanhamento psicossocial).

Com os resultados obtidos poderão ser estabelecidas políticas de saúde para a prevenção e controle da obesidade, bem como a possibilidade de estudos futuros."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de relevância temática.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória adequados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, o CEP-UFTM manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

Endereço: Rua Madre Maria José, 122	
Bairro: Nossa Sra. Abadia	CEP: 38.025-100
UF: MG	Município: UBERABA
Telefone: (34)3318-5776	Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



Continuação do Parecer: 1.321.825

O CEP-UFTM informa que a partir desta data de aprovação, é necessário o envio de relatórios anuais, assim como também é obrigatória, a apresentação do relatório final, quando do término do estudo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado na reunião de Colegiado do CEP-UFTM em 06/11/2015.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_608438.pdf	15/10/2015 15:23:35		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	14/10/2015 16:44:53	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
Outros	AUTORIZACAOAMBULATORIO.pdf	13/10/2015 16:12:06	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
Outros	GEP.pdf	13/10/2015 16:10:59	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
Outros	questionarioObesidade.doc	13/10/2015 16:08:58	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMenoresdeldade.doc	13/10/2015 16:08:04	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMaioresdeldade.doc	13/10/2015 16:07:52	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEGrupocontrole.doc	13/10/2015 16:07:30	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOCEP.doc	13/10/2015 16:06:04	Roseane Lopes da Silva Grecco	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
 Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
 UF: MG Município: UBERABA
 Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br



Continuação do Parecer: 1.321.825

UBERABA, 13 de Novembro de 2015

Assinado por:
Alessandra Cavalcanti de Albuquerque e Souza
(Coordenador)

Endereço: Rua Madre Maria José, 122
Bairro: Nossa Sra. Abadia CEP: 38.025-100
UF: MG Município: UBERABA
Telefone: (34)3318-5776 Fax: (34)3318-5776 E-mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br