



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Allan Ribeiro Reis Scharf Costa

**Investigação de associação entre ancestralidade genética, polimorfismos genéticos relacionados à obesidade e marcadores de adiposidade: estudo Pró-Saúde**

Rio de Janeiro - RJ

2021

Allan Ribeiro Reis Scharf Costa

**Investigação de associação entre ancestralidade genética, polimorfismos genéticos relacionados à obesidade e marcadores de adiposidade: estudo Pró-Saúde**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Leonor Rodrigues de Sousa Botelho de Gusmão

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Faerstein

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

C837 Costa, Allan Ribeiro Reis Scharf.  
Investigação de associação entre ancestralidade genética, polimorfismos genéticos relacionados à obesidade e marcadores de adiposidade: estudo Pró-Saúde / Allan Ribeiro Reis Scharf Costa. - 2021.  
72 f.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Leonor Rodrigues de Sousa Botelho de Gusmão  
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Faerstein

Mestrado (Dissertação) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biociências.

1. Obesidade – Teses. 2. Adiposidade – Teses. 3. Polimorfismo (Genética). 4. Hereditariedade – Teses. I. Costa, Allan Ribeiro Reis Scharf. II. Faerstein, Eduardo. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 616-056.2

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira  
CRB7/6382

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Allan Ribeiro Reis Scharf Costa

**Investigação de associação entre ancestralidade genética, polimorfismos genéticos relacionados à obesidade e marcadores de adiposidade: estudo Pró-Saúde**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 04 de agosto de 2021.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Maria Leonor Rodrigues de Sousa Botelho de Gusmão  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Faerstein  
Instituto de Medicina Social - UERJ

Banca examinadora: \_\_\_\_\_  
Prof<sup>ª</sup>. Dra. Simone Vargas da Silva  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>ª</sup>. Dra. Verônica Marques Zembrzuski  
Instituto Oswaldo Cruz

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>ª</sup>. Dra. Flávia Fioruci Bezerra  
Instituto de Nutrição - UERJ

Rio de Janeiro

2021

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Edy Lucienne e Angelo.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Edy Lucienne e Angelo, as pessoas mais importantes em minha vida, pelo amor e apoio incondicionais. Eles são os grandes responsáveis por eu ter concluído mais este passo.

Ao meu irmão Alekcei, pelo apoio e irmandade ao longo de todos esses anos.

À minha orientadora, Leonor Gusmão, pela orientação, conhecimento e ensinamentos passados com tanta dedicação e atenção.

Ao meu coorientador, Eduardo Faerstein, pela orientação, confiança e por ter tão bem me aceitado neste projeto.

Aos meus amigos, que de alguma forma me incentivam a buscar conhecimento e a persistir.

A todos os colegas que fazem parte do Laboratório de Diagnósticos por DNA da UERJ, pela ajuda e companheirismo ao longo da pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A compreensão do mundo natural é uma fonte não apenas de grande curiosidade, mas também de grande satisfação.

*David Attenborough*

## RESUMO

COSTA, Allan Ribeiro Reis Scharf. **Investigação de associação entre ancestralidade genética, polimorfismos genéticos relacionados à obesidade e marcadores de adiposidade:** estudo Pró-Saúde. 2021. 72f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

A susceptibilidade à obesidade está relacionada a fatores ambientais, sociais, culturais e genéticos. Dentre os fatores genéticos destaca-se a ancestralidade e genes que atuam ao nível do sistema nervoso central. As estimativas de ancestralidade são utilizadas para auxiliar na compreensão das contribuições genéticas na variação individual de parâmetros de obesidade e composição corporal, particularmente, em grupos miscigenados conhecidos por diferirem quanto a susceptibilidade à obesidade. A genotipagem de marcadores informativos de ancestralidade (AIMs) permite a estimativa de proporções de ancestralidade entre indivíduos em uma amostra. Este estudo teve como objetivo investigar pela primeira vez, numa amostra populacional do Estado do Rio de Janeiro, associação entre ancestralidade, marcadores em genes descritos como associados à obesidade e adiposidade, de forma a contribuir com conhecimentos sobre a saúde desta fração populacional. Para investigar associações entre fatores genéticos e adiposidade, foi analisada uma amostra de 501 indivíduos não aparentados do Estado do Rio de Janeiro, pertencentes ao Estudo Pró-Saúde (EPS). Foram avaliados quarenta e seis polimorfismos de inserção/deleção (InDels) como AIMs e quatro polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), rs17782313, rs9939609, rs7138803 e rs4074134, localizados nos genes *MC4R*, *FTO*, *FAIM2* e *BDNF*, respectivamente, descritos como associados à obesidade. Os resultados foram interpretados considerando as informações disponíveis em publicações anteriores em diferentes populações. Os marcadores de adiposidade utilizados nas análises de associação foram o IMC, circunferência da cintura, razão cintura-quadril e porcentagem de gordura corporal. Através de uma análise de subestruturação populacional, observou-se que a população estudada apresenta desequilíbrio de Hardy-Weinberg. A utilização dos AIMs como fator de correção nas análises de associação entre os SNPs associados à obesidade e marcadores de adiposidade é vital para que esses efeitos de subestruturação não enviesem a associação e levem a interpretações espúrias. A partir da genotipagem dos AIMs e SNPs, identificou-se a ancestralidade e o perfil genotípico, respectivamente, da amostra populacional. A amostra apresentou maior ancestralidade europeia (57,2 %), seguida de africana (28,8 %) e, por último, ameríndia (14 %). Nesta amostra da população brasileira, não foram observadas associações estatisticamente significativas entre os fatores genéticos estudados e os marcadores de adiposidade relacionados à obesidade. Observa-se pela literatura que o papel de fatores genéticos no aumento da adiposidade e manifestação da obesidade é controverso. Alguns autores apontam a responsabilidade genética, enquanto outros não a observam. Uma explicação é que o aumento da adiposidade e consequente obesidade são condições multifatoriais e possuem outras variáveis que podem ter um maior efeito em seu desenvolvimento, como fatores ambientais, sociais e culturais.

Palavras-chave: Adiposidade. Obesidade. Ancestralidade. População brasileira. Estudo de associação.



## ABSTRACT

COSTA, Allan Ribeiro Reis Scharf. **Investigation of association between genetic ancestry, obesity-related genetic polymorphisms and markers of adiposity:** Pró-Saúde study. 2021. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Obesity susceptibility is related to environmental, social, cultural, and genetic factors. Among genetic factors, the ancestry and genes which act within the central nervous system are highlighted. Ancestry estimates have been used in different ways to understand the role of the genetic contribution on the individual variation in obesity parameters and body composition, mainly in miscegenated groups known to differ in susceptibility to obesity. Ancestry informative markers (AIMs) genotyping allow the genetic ancestry determination of individuals within a sample. This study aimed to investigate for the first time, in a population sample of the State of Rio de Janeiro, the association between ancestry, markers in genes described as associated with obesity and adiposity, in order to contribute to knowledge about the health of this population fraction. To investigate the association between genetic factors and adiposity, it was analysed a total of 501 unrelated individuals from the State of Rio de Janeiro, all participants of the Pro-Saúde Study (EPS). Forty-six insertion/deletion (InDels) polymorphisms were evaluated as AIMs and four single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs17782313, rs9939609, rs7138803, and rs4074134, located in the genes *MC4R*, *FTO*, *FAIM2* and *BDNF*, respectively, described as associated with obesity. The results were interpreted considering the information available in previous publications on different populations. The adiposity markers used in the association analyses were BMI, waist circumference, waist-to-hip ratio and body fat percentage. Through an analysis of population substructure, it was observed that the studied population presents Hardy-Weinberg disequilibrium. The use of AIMs as a correction factor in the analyses of association between SNPs associated with obesity and markers of adiposity is vital so that these substructuring effects do not bias the association and lead to spurious interpretations. From the genotyping of the AIMs and SNPs, the ancestry and genotypic profile of the population sample were identified, respectively. The sample showed a major European ancestry (57.2 %), followed by African (28.8 %) and, lastly, Amerindian (14 %). In this Brazilian population sample, no statistically significant associations were observed between the studied genetic factors and the markers of adiposity related to obesity. It is observed in the literature that the role of genetic factors in the increase in adiposity and manifestation of obesity is controversial. Some authors point out genetic responsibility, while others do not observe it. One explanation is that the increase in adiposity and consequent obesity are multifactorial conditions and have other variables that may have a greater effect on its development, such as environmental, social and cultural factors.

Keywords: Adiposity. Obesity. Ancestry. Brazilian population. Association study.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Migrações humanas ao longo do tempo. ....	23
Figura 2 - Eletroferograma de um perfil para os 46 AIM-InDels, como visualizado no software GeneMapper.....	37
Gráfico 1 - Proporções de ancestralidade de cada indivíduo da amostra populacional do Estado do Rio de Janeiro, utilizando os 46 AIM-InDels e obtidas pelo software STRUCTURE. ....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Associações entre o IMC e ancestralidades europeia, africana e ameríndia desde 2003.....	21
Tabela 2 - AIM-InDels utilizados neste estudo, incluindo a localização de cada marcador no genoma e os alelos relatados.....	35
Tabela 3 - Resultados dos testes ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	41
Tabela 4 - Diferenças nas médias das ancestralidades genéticas por gênero na amostra populacional. O desvio padrão e o nível de significância também são mostrados. .	44
Tabela 5 - Médias dos indivíduos amostrados, desvio padrão e <i>p</i> -valores entre homens e mulheres.....	44
Tabela 6 - Caracterização dos indivíduos quanto ao sobrepeso, obesidade e riscos metabólicos para cada marcador de adiposidade, de acordo com a OMS. ....	46
Tabela 7 - Resultados de associação e correlação, assim como intervalos de confiança e valores de <i>p</i> para as análises de associação entre as ancestralidades genéticas e os marcadores de adiposidade.....	47
Tabela 8 - Médias, desvios padrão e amostragem dos quatro marcadores de adiposidade para cada genótipo dos quatro <i>loci</i> . ....	50
Tabela 9 - Frequências dos genótipos na amostra de estudo e nas populações de referência africana, europeia e ameríndia. ....	51
Tabela 10 - Resultados de associação e correlação, assim como intervalos de confiança e valores de <i>p</i> para as análises de associação entre os genótipos e os marcadores de adiposidade. ....	52
Tabela 11 - Resultados de associação e correlação, assim como valores de <i>p</i> para a análise de associação entre a variável removida e os marcadores de adiposidade. ....	54

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

A	Adenina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
AFR	Ancestralidade Africana
AIM	<i>Ancestry Informative Marker</i>
AME	Ancestralidade Ameríndia
<i>BDNF</i>	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
C	Citosina
CC	Circunferência da Cintura
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DXA	Absorciometria de Raios-X de Dupla Energia
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
<i>ENPP1</i>	Ectonucleotídeo Pirofosfatase/Fosfodiesterase
EPS	Estudo Pró-Saúde
EUR	Ancestralidade Europeia
<i>FAIM2</i>	Molécula Inibitória do Ligante Apoptótico Fas 2
<i>FTO</i>	Gene Associado à Massa Gorda e Obesidade
FUNAI	Fundação Nacional do Índio
G	Guanina
<i>GNPDA2</i>	Glucosamina-6-Fosfato Desaminase 2
GORD C.	Porcentagem de Gordura Corporal
GWAS	<i>Genome Wide Association Studies</i>
HGDP-CEPH	Projeto de Diversidade do Genoma Humano - Centro de Estudo do Polimorfismo Humano
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1
IMC	Índice de Massa Corporal
InDel	Inserções e deleções
<i>KCTD15</i>	Domínio de Tetramerização 15 do Canal de Potássio
<i>MC4R</i>	Receptor de Melanocortina 4

MCMC	<i>Markov Chain Monte Carlo</i>
MESA	Estudo Multiétnico para Aterosclerose
mRNA	RNA Mensageiro
MSH	Hormônios Estimulantes de Melanócitos
<i>MTCH2</i>	Domínio Mitocondrial Homólogo 2
N	Número de Indivíduos
<i>NEGR1</i>	Regulador do Crescimento Neuronal 1
OMS	Organização Mundial da Saúde
pb	Par de bases
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PIB	Produto Interno Bruto
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra Domiciliar
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
<i>PON1</i>	Paraoxonase 1
RCQ	Razão Cintura-Quadril
RNA	Ácido Ribonucleico
SD	Desvio Padrão
<i>SH2B1</i>	Proteína Adaptadora 1 SH2B
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
T	Timina
<i>THSD7A</i>	Proteína 7A Contendo Domínio de Trombospondina Tipo 1
<i>TMEM18</i>	Proteína Transmembrana 18
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
WHI	<i>Women's Health Initiative</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

=	Igual
/	Divisão
kg/m <sup>2</sup>	Kilograma por Metro ao Quadrado
%	Porcentagem
≥	Maior ou Igual
°C	Grau Celsius
x	Multiplicação
μL	Microlitro
μM	Micromolar
ng	Nanograma
min	Minutos
s	Segundos
cm	Centímetros
<i>p</i>	Valor de Probabilidade de Significância Estatística
<	Menor que
β	Beta
<i>r</i>	Coefficiente de Correlação

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1. OBJETIVOS</b> .....	32
1.1. <b>Geral</b> .....	32
1.2. <b>Específicos</b> .....	32
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
2.1. <b>Amostras e extração de DNA</b> .....	33
2.2. <b>Genotipagem dos 46 AIM-InDels</b> .....	34
2.3. <b>Genotipagem dos quatro SNPs descritos como associados à obesidade</b> .....	37
2.4. <b>Marcadores de adiposidade</b> .....	38
2.5. <b>Análise estatística</b> .....	39
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
3.2. <b>Análise de subestruturação populacional</b> .....	40
3.3. <b>Ancestralidade genética</b> .....	42
3.4. <b>População amostral quanto aos marcadores de adiposidade</b> .....	44
3.5. <b>Associação entre ancestralidade genética e os marcadores de adiposidade</b> .....	46
3.6. <b>Associação entre os SNPs dos genes <i>MC4R</i>, <i>FTO</i>, <i>FAIM2</i>, <i>BDNF</i> e os marcadores de adiposidade</b> .....	49
3.6.1. <b><u>rs17782313</u> (<i>MC4R</i>)</b> .....	54
3.6.2. <b><u>rs9939609</u> (<i>FTO</i>)</b> .....	55
3.6.3. <b><u>rs7138803</u> (<i>FAIM2</i>)</b> .....	56
3.6.4. <b><u>rs4074134</u> (<i>BDNF</i>)</b> .....	57
<b>CONCLUSÕES</b> .....	59
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	60

## INTRODUÇÃO

O presente trabalho visa investigar potenciais associações entre marcadores genéticos, informativos de ancestralidade e localizados em genes descritos como associados à obesidade, e marcadores de adiposidade.

A obesidade, uma condição antes rara, aumentou com o tempo em incidência e foi finalmente identificada como um problema de saúde em meados do século XIX (1). Desde 1980, o índice de massa corporal ( $IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$ ) tem aumentado em média  $0,4 \text{ kg/m}^2$  por década nas populações, em todo o mundo. Em 2000, pela primeira vez, o número de adultos com excesso de peso superou o daqueles com déficit (2) e, dez anos depois, a prevalência mundial de obesidade dobrou. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou que 39 % dos adultos já estavam com sobrepeso ( $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) e 13 % eram obesos ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) (3). Os países de baixa e média renda, em grande parte localizados na África e nas Américas, registraram um aumento mais rápido na prevalência de sobrepeso e obesidade (4).

Nos últimos anos tem sido descrito o papel da genética na predisposição à obesidade, possivelmente associado a outros aspectos como os ambientais e epigenéticos, que podem levar ao surgimento da condição (5–11). Esses estudos também apontam para uma possível associação entre ancestralidade e obesidade, mostrando a importância de se conhecer melhor a história das populações e suas características de ancestralidade. Esse aspecto pode ser ainda mais relevante em populações miscigenadas formadas a partir de grupos bem diferenciados (12–14).

O uso dos marcadores de ancestralidade como ferramenta para esse entendimento faz parte do campo da genética de populações, que estuda a variabilidade genética que ocorre naturalmente nos organismos em nível individual e populacional, como também a distribuição e variação dessas frequências ao longo das gerações no tempo. A principal fonte da alteração genética são as mutações, que podem ocorrer ao acaso no nível genético, e posteriormente são sujeitas a forças evolutivas como migração, deriva gênica e seleção natural; dando origem à variabilidade genética que se observa nas populações atuais (15,16). Desta forma, as diferenças acumuladas ao longo do tempo resultam em uma diversidade populacional refletida nas relações evolutivas de ancestralidade (17).

Um dos tipos de marcadores genéticos, os polimorfismos de nucleotídeo único, chamados de *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs, em português, Polimorfismos de Nucleotídeo Único) são os marcadores bialélicos mais escolhidos para muitas aplicações, como



o estudo de genes relacionados a doenças, pois possuem uma alta conservação, visto que apresentam uma baixa taxa de mutação (aproximadamente  $10^{-8}$ ) (18). Os SNPs têm sido muito utilizados em estudos de associação com doenças condicionadas geneticamente, tal como a obesidade e suas consequências metabólicas (19,20).

A obesidade é uma condição complexa influenciada por fatores genéticos, comportamentais, nutricionais, sociais e ambientais (21,22). A obesidade de forma geral parece não seguir um modelo apenas de herança genética e é causada por uma interação de fatores ambientais com múltiplas variantes genéticas (23).

A fim de explorar a interação de fatores genéticos e ambientais, uma consideração cuidadosa se faz necessária para identificar as variáveis ambientais que explicam a origem da obesidade e seus traços relacionados. É de vital importância nesse campo de pesquisa, entender como os ambientes obesogênicos atuais impactam e interagem com a composição genética na variabilidade fenotípica, através de análises sensíveis a esses múltiplos fatores. O foco da avaliação ambiental deve se expandir da ingestão alimentar e da atividade física para aspectos relacionados ao ambiente social e cultural, bem como fatores fisiológicos que refletem a variabilidade na resposta, como macronutrientes, biologia muscular, respostas ao estresse em nível celular, entre outros.

Diante da suposta evidência da associação entre genética, adiposidade e obesidade, faz-se importante esta investigação em populações que apresentam mistura genética, com o uso de marcadores que se mostram eficientes e apresentam resultados satisfatórios nesta busca. Estudos com marcadores informativos de ancestralidade e de polimorfismo único, utilizados em conjunto, demonstram resultados em populações miscigenadas e evitam a detecção de associações espúrias entre os fatores genéticos e os marcadores relacionados à obesidade. Esses trabalhos nos ajudam a entender a história da obesidade como condição médica pandêmica crescente (24–27).

### **Agravamento da obesidade como pandemia no século XXI**

No Brasil, um estudo nacional denominado Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL 2019) identificou que 55,4 % dos indivíduos com 18 anos ou mais estão com sobrepeso e 20,3 % são obesos. Quanto ao excesso de peso, a incidência passou de 42,6 % em 2006 para 55,4 % em 2019. A maior prevalência é entre os homens, chegando a 57,1 %, e 53,9 % entre as mulheres. A pesquisa apontou ainda que o excesso de peso tende a aumentar com a idade: para os jovens de 18 a 24 anos, a prevalência

foi de 30,1 % e entre os adultos com 65 e mais de 59,8 %. Em relação à obesidade, o maior percentual é entre as mulheres (21 %) e aumenta com a idade: para os jovens de 18 a 24 anos é de 8,7 % e entre os adultos com 65 anos ou mais chega a 20,9 % (28).

No Estado do Rio de Janeiro, segundo os dados do VIGITEL (2019), 20,2 % dos habitantes da capital são obesos e 57 % têm sobrepeso, números que se aproximam da média nacional (28).

O VIGITEL (2019) mostra ainda que 7,4 % da população adulta apresenta diabetes e 24,5 %, hipertensão — doenças que podem estar relacionadas à obesidade. A Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), de 2013, indica que dentre os adultos com diabetes, 75,2 % têm excesso de peso e, entre os adultos com hipertensão, 74,4 % têm excesso de peso (28).

Como já ocorre em sociedades com maior distribuição de renda e em melhor situação financeira, países financeiramente instáveis de baixa e média renda também têm uma tendência de concentração gradual da obesidade nas camadas mais pobres da população (29–31). No Brasil, entre 2006 e 2009, o aumento da prevalência de obesidade foi semelhante entre os homens, independentemente da escolaridade; entretanto, entre as mulheres, evidenciou-se a desigualdade social: a obesidade aumentou de 15 % para 18 % entre aquelas com até 8 anos de educação formal e em menor intensidade, de 7 % para 8 % entre as mulheres com 12 ou mais anos de escolaridade (32).

Os esforços governamentais focam suas estratégias na compreensão dos principais mecanismos envolvidos no ganho excessivo de massa corporal, que estão evidentemente relacionados ao desequilíbrio energético, ou seja, ingestão que excede o gasto calórico. No Brasil, a evolução do problema é consistente com a aquisição de alimentos processados e ultraprocessados, que estão cada vez mais disponíveis, e conseqüentemente mais consumidos em casa ou em restaurantes (33); a redução na aquisição de alimentos não processados e saudáveis, e o aumento de produtos processados e ultraprocessados; e a baixa prevalência de atividade física, principalmente entre as mulheres (28).

A obesidade entre os animais, por outro lado, contrasta fortemente com a obesidade humana: muitos animais exibem um fenótipo de 'obeso saudável', livre das complicações metabólicas normalmente vistas em humanos obesos mórbidos (34). A ratazana de Brandt, por exemplo, passa por fases de adiposidade induzida por fotoperiodicidade, sem nenhum efeito na homeostase da glicose (35). Mesmo entre os animais criados para armazenar energia máxima — como vacas e porcos — a obesidade existe sem hiperglicemia (36). Por outro lado, quando os animais adaptados a ambientes com estresse nutricional são deslocados de seu habitat nativo, os sintomas da doença metabólica são óbvios. Quando em ambientes com baixo gasto

energético e dietas ricas em gordura, os porcos selvagens da Ilha de Ossabaw apresentam características de pré-diabetes e doenças cardíacas (37). Da mesma forma, os peixes-leão invasores que vivem em meio à superabundância de alimentos no Oceano Atlântico aumentaram acentuadamente os depósitos de gordura intersticial e os danos hepáticos associados (38). A obesidade humana pode ser afetada por uma discordância semelhante entre o habitat original da espécie humana e o ambiente em que vivemos atualmente.

Ao longo da segunda metade do século passado, as pesquisas biomédicas e epidemiológicas se concentraram principalmente em detalhar o papel dos principais mecanismos envolvidos no ganho de massa corporal (39,40). Portanto, predominaram as iniciativas de promoção da saúde com foco conjunto na redução da ingestão calórica, com restrição de gorduras e/ou carboidratos e aumento dos gastos com atividades físicas. Não obstante, a eficácia dessas estratégias tem se mostrado limitada (41). Até este momento, nenhum país conseguiu resultados efetivos e satisfatórios com ações de nível nacional que garantam o balanço energético de forma correta e em padrões ideais. Isso ajuda a entender o esforço para buscar mais explicações e estratégias, e também o considerável aumento, no atual século, de estudos de associação entre obesidade e genética.

### **A obesidade como fator de risco para enfermidades**

Em vários países, observa-se queda na mortalidade por doenças crônicas cardiovasculares e respiratórias, e um aumento da diabetes mellitus tipo 2 e da hipertensão arterial, de modo que essas duas últimas seguem próximas com o aumento da prevalência de obesidade. Projeções realizadas nos EUA sugerem que a atual geração de crianças poderá ter uma média de vida inferior à de seus pais, embora os gastos sociais com saúde já consumam quase um quinto do PIB estadunidense (*Centers for Medicare and Medicaid Services, 2012*). A tendência, com o aumento do uso tecnológico na saúde pública, é o crescimento desses custos nos anos seguintes. No Brasil, Bahia et al. (42) estimaram que o impacto do excesso de peso nos gastos do SUS já supera R\$ 4 bilhões por ano.

As diversas complicações clínicas da obesidade projetam um aumento da mortalidade geral e da mortalidade causada por doenças cardiovasculares, o que configura, nesta última, uma reversão das últimas tendências de declínio. A obesidade contribui de forma significativa com cerca de 70 % dos casos de diabetes tipo 2 (43), além de estar associada a um maior risco de outras condições, como: doença arterial coronariana (44), acidente vascular cerebral (45), insuficiência cardíaca (46) e tromboembolismo venoso (47). Está associada também a

neoplasias malignas (câncer) (48), transtornos mentais comuns (49), doença de Alzheimer (50), colecistopatias (51), osteoartrite (52) e eventos adversos obstétricos e neonatais (53).

Mais recentemente, a obesidade se mostrou um dos principais fatores de risco para o agravamento da infecção pelo SARS-CoV-2 causador da COVID-19. No final de 2019, um grupo de pacientes com pneumonia de origem desconhecida foi relatado pela primeira vez em Wuhan, na região central da China. As manifestações clínicas da doença vão desde infecção assintomática ou leve até formas graves com risco de morte. Entre os fatores de risco estão condições crônicas como doença pulmonar, doença cardiovascular, diabetes mellitus e hipertensão, todos esses altamente associados à condição obesogênica. Embora o papel da obesidade tenha sido inicialmente negligenciado, estudos mais recentes evidenciam que ela está associada como uma das maiores, senão a maior, causadora de finais mortais da condição clínica (54).

No caso da COVID-19, a obesidade revela ainda mais seu caráter crônico inflamatório, de modo que pode agravar a obstrução do diafragma, prejudicar as respostas imunológicas à infecção viral, induzir ao diabetes tipo 2 e causar um maior estresse oxidativo, além de afetar adversamente a função cardiovascular. Estima-se que em populações com alta prevalência de obesidade, a COVID-19 afetará grupos mais jovens mais do que relatado anteriormente, e menos em populações com menor sobrepeso. Medidas públicas e privadas direcionadas ao público jovem adulto, como testagem em massa, ratificação da importância do exercício físico e alimentação saudável podem reduzir a prevalência da COVID-19 e suas formas mais graves (55).

Investigar a relação entre obesidade e seu potencial papel no agravamento também desta doença é, portanto, de grande importância clínica e social. Desde sua revelação como fator associado a complicações para diversas condições clínicas até o grave acometimento de sua condição per se, a obesidade tem se mostrado e deve se mostrar mais ainda protagonista em um número crescente de estudos na área clínica e biológica.

### **Fatores de predisposição à obesidade**

A epidemia moderna de obesidade é explicada em grande parte por fatores ambientais, sociais e culturais que ocasionam consumo excessivo de energia e inatividade física. Populações que não têm em seu ambiente a exigência do exercício físico, que consomem uma dieta mais calórica, ou que culturalmente prezam por um corpo com mais massa total, podem apresentar mais indivíduos obesos que em populações com características contrárias. No

entanto, mesmo em ambientes biológicos compartilhados, apenas um subconjunto de indivíduos desenvolve obesidade (56). Parece haver uma propensão diferencial à obesidade no nível individual, com fatores biológicos como gênero, idade e ambiente intra-uterino contribuindo para essa variabilidade (56,57). As taxas de obesidade também diferem entre os grupos étnicos que vivem em condições ambientais semelhantes. Embora as escolhas de estilo de vida possam explicar parte dessa variabilidade, estudos genéticos, como já visto, demonstram que genes específicos também contribuem para o risco de obesidade étnico-dependente (58).

O estilo de vida e os fatores genéticos contribuem para a obesidade. O fator genético decide a susceptibilidade à obesidade, mas o ambiente, a dieta e os exercícios físicos decidem a expressão do DNA (5). Indivíduos com a mesma absorção e consumo de energia estariam em diferentes estados de peso corporal devido à diferença em suas genéticas, pois o genoma pode influenciar a inclinação da ingestão nutricional e o hábito de escolha dos alimentos (59). Assim, é essencial descobrir como a genética impacta e gerencia a massa corporal.

### **Ancestralidade e obesidade**

A estimativa da ancestralidade genética permitiu que pesquisadores nas últimas décadas identificassem sua relação com traços relacionados à obesidade, fornecendo evidências de associação em algumas populações (60,61). O parâmetro mais usado para a avaliação da ancestralidade genética e da obesidade é o IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), que tem sido associado às ancestralidades europeia, africana ou ameríndia em distintos grupos étnicos. A tabela 1 mostra estudos de associação entre o IMC com as ancestralidades europeia, africana ou ameríndia, realizados nos últimos 20 anos, juntamente com a direção da associação e as contribuições ancestrais consideradas para a estimativa da miscigenação em cada estudo.

É interessante notar que alguns trabalhos apontam para uma relação direta entre determinado componente ancestral e o IMC, enquanto outros relatam uma associação inversa. Como mostrado na tabela 1, o componente africano está diretamente associado ao IMC em diferentes populações. Essa direção de associação confere ao componente africano um favorecimento para maiores índices do IMC. A ancestralidade ameríndia, apesar de analisada em apenas duas populações, apresenta associações inversas com o IMC, o que pode conferir proteção a níveis mais elevados do índice. O componente europeu surge como o mais controverso, onde em alguns estudos há uma relação direta, e em outros uma relação inversa

com o IMC. Essas discrepâncias parecem ser afetadas pelo número de contribuições ancestrais consideradas no estudo, etnia, gênero da amostra do estudo e fatores ambientais (25).

Tabela 1 - Associações entre o IMC e ancestralidades europeia, africana e ameríndia desde 2003

Mistura genética associada ao IMC	População estudada	Direção da associação com o IMC	Ancestralidade avaliada			Referência
			EUR	AFR	AME	
Mistura europeia	Homens e mulheres hispano-americanos*	+	x	x	x	Tang, 2006
	Homens e mulheres nativo-americanos*	-	x	x	x	Klimentidis, 2009
	Homens e mulheres afro-americanos*	-	x	x		Cheng, 2010
	Mulheres brasileiras acima de 60 anos	+	x	x	x	Lins, 2012
	Mulheres afro-americanas e hispano-americanas*	-	x	x	x	Nassir, 2012
Mistura africana	Mulheres afro-americanas*	+	x	x		Fernández, 2003
	Homens e mulheres afro-americanos*	+	x	x	x	Tang, 2006
	Mulheres dominicanas	+	x	x	x	Tajima, 2006
	Mulheres afro-americanas e hispano-americanas*	+	x	x	x	Nassir, 2012
	Mulheres afro-americanas*	+	x	x	x	Nassir, 2012
Mistura ameríndia	Homens e mulheres hispano-americanos*	-	x	x	x	Tang, 2006
	Mulheres afro-americanas e hispano-americanas*	-	x	x	x	Nassir, 2012

Legenda: Eur: europeia, Afr: africana, Ame: ameríndia. \*: voluntários foram recrutados em diferentes regiões dos EUA por sua auto-declaração étnica e em seguida submetidos à análise molecular de ancestralidade.

Fonte: adaptada de Fernández et al. (25).

Dado que níveis semelhantes de IMC entre indivíduos do mesmo grupo étnico não se traduzem em níveis equivalentes de gordura corporal (62), os pesquisadores exploraram a

associação das estimativas de ancestralidade com outros parâmetros de composição corporal, particularmente com medidas relacionadas aos ossos, à massa magra e à gordura. Entre os afro-americanos nos EUA, a ancestralidade africana tem sido diretamente associada à massa gorda, massa magra e densidade mineral óssea em mulheres na pré-menopausa (63); e a europeia tem sido diretamente associada à densidade mineral óssea no colo do fêmur (somente para mulheres), densidade mineral óssea na coluna trabecular, massa magra apendicular, massa total e gordura corporal total (64). Por sua vez, em uma coorte de adultos afro-americanos entre 45 e 64 anos, foi encontrada uma associação direta entre os níveis de ancestralidade europeia, IMC, massa total e a espessura das dobras cutâneas subescapulares, e inversa entre o componente europeu e a circunferência da cintura (58).

O papel da ancestralidade genética na composição corporal também foi estudado em diversas populações. Em uma amostra multiétnica de crianças de ascendência africana, europeia e nativa americana, a ancestralidade da África Ocidental foi inversamente associada à massa gorda, tecido abdominal total, tecido adiposo intra-abdominal e tecido adiposo abdominal subcutâneo, e diretamente associada ao conteúdo mineral ósseo (65). Em uma amostra de mulheres porto-riquenhas na pós-menopausa, a mistura da África Ocidental foi associada à densidade mineral óssea e à menor adiposidade visceral (66,67). Por outro lado, a mistura ameríndia tem sido associada a níveis mais altos de gordura corporal em crianças (68), distribuição de gordura em mulheres hispano-americanas (69) e porcentagem de gordura corporal em nativos americanos auto-identificados (70).

Estimativas de ancestralidade genética também foram usadas para avaliar a contribuição da ancestralidade em aspectos fisiológicos conhecidos por mediar o acúmulo de gordura, incluindo sensibilidade à insulina (71–74), atividade física e condicionamento físico (68,75), hábitos alimentares (76) e fatores de crescimento, como o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), um hormônio que desempenha um papel importante no crescimento infantil e tem efeitos anabólicos em adultos (77). Embora esses estudos forneçam informações sobre as possíveis aplicações da ancestralidade genética à natureza complexa do acúmulo de gordura, ainda é necessário identificar os mecanismos que conectam esse fator genético a características relacionadas à obesidade, considerando a influência de variados fatores ambientais.

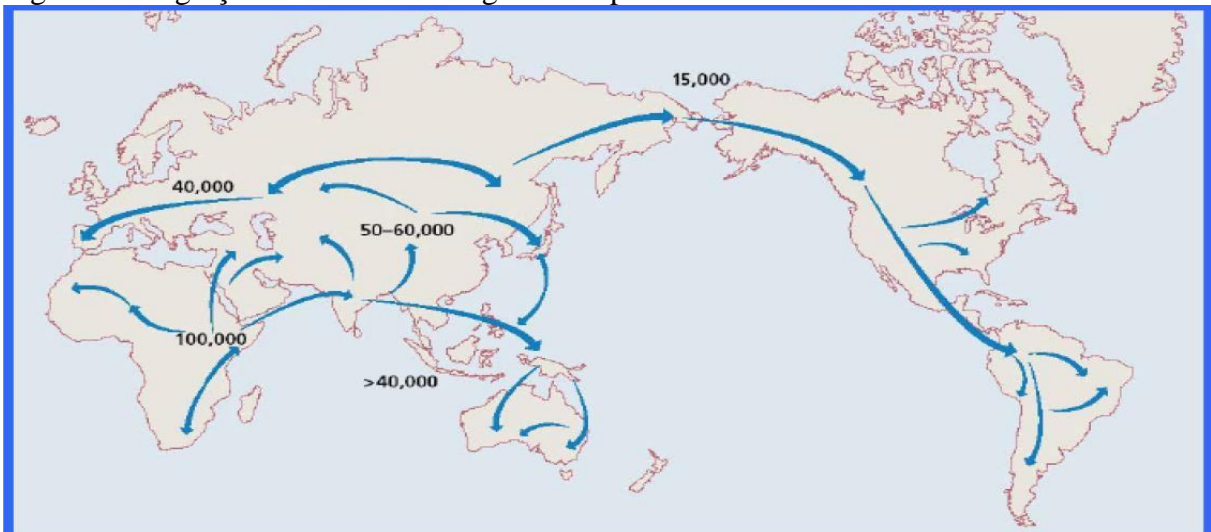
## **Genética e evolução das populações humanas**



A fim de se compreender os padrões de diversidade genética das populações humanas atuais, faz-se necessário o entendimento dos fatores evolutivos que as originaram. As populações humanas têm como principal característica uma baixa diferenciação interpopulacional e uma diferenciação significativa entre indivíduos de uma mesma população. A variabilidade genética das populações deve-se ao acúmulo de mutações e à ação de outras forças evolutivas, tais como: migração, deriva gênica, seleção natural e também recombinação gênica (78).

O aprofundamento do conhecimento do processo evolutivo é o escopo de todas as pesquisas no ramo da genética de populações. Desta forma, os avanços científicos trouxeram a possibilidade de avaliação e estudo de uma das questões mais pertinentes do homem moderno, a de confirmar a história de sua dispersão pela Terra (Figura 1) (79).

Figura 1 - Migrações humanas ao longo do tempo



Legenda: os deslocamentos do homem moderno a partir da África para Ásia, Europa e Oceania e por último para as Américas. Os números correspondem à estimativa em anos determinada principalmente por fósseis encontrados em diferentes sítios e lugares.

Fonte: Cavalli-Sforza et al. (79).

As migrações humanas por diferentes regiões continentais produziram marcas genéticas, possíveis de serem confirmadas atualmente através de diferenças nas frequências alélicas. Estudos envolvendo populações humanas utilizam marcadores com diferentes características em termos de taxa de mutação, susceptibilidade a fenômenos de deriva gênica e frequência de recombinação, para elucidar eventos ocorridos em diferentes escalas temporais. A partir de estudos filogeográficos e do mapeamento das frequências alélicas para diferentes marcadores genéticos, pode ser criado um quadro que sugere por onde e quando os ancestrais do homem moderno se deslocaram (80).

A maioria da variação vista hoje se originou no período de tempo durante o qual os humanos distribuíram-se ao longo do Velho Mundo. O aumento do tamanho populacional foi motivado pela agricultura e outros fatores que propiciaram a fixação das sociedades. Aproximadamente, 90 % do total da variação genética detectada ocorre entre indivíduos de um mesmo continente e apenas 10-20 % entre populações de continentes diferentes. Portanto, o padrão de compartilhamento da variação genética entre as populações tem implicações importantes para o entendimento sobre as diferenças e similaridades entre elas (81).

Visto isso, nomenclaturas com o intuito de classificar as populações existentes em grupos ou raças têm se mostrado pouco eficientes para descrever a diversidade observada. Esses termos classificatórios então caíram em desuso, não só pelo fato das diferenças intrapopulacionais serem mais acentuadas que as interpopulacionais, mas também pela inexistência de barreiras ao fluxo gênico, criando gradientes contínuos de variação entre diferentes populações geográficas.

O uso de marcadores de ancestralidade para se compreender a história de uma população é vital em estudos de biologia molecular. Esses marcadores são capazes de identificar componentes de ancestralidade em diferentes populações geográficas, mesmo que muito miscigenadas, como é o caso da população brasileira.

### **Aspectos históricos da população brasileira**

Essencialmente uma população formada por três grupos ancestrais: europeus, africanos e nativos, a população brasileira se desenvolveu carregando características desses três povos, não só históricas e culturais, mas também moleculares.

Os nativos brasileiros, os primeiros habitantes, são descendentes do primeiro grupo de caçadores asiáticos que chegaram às Américas durante o período glacial através do estreito de Bering e possivelmente também por outros meios, inclusive marinhos, há mais ou menos 16.000 anos (82–84). Espalharam-se pelas Américas ao longo de gerações desde o extremo norte até o extremo sul. Essa população que originalmente saiu da Ásia, sofreu uma redução drástica no seu efetivo, diminuindo a variabilidade genética existente nestes primeiros povos que migraram para o continente americano (85).

Estima-se que a chegada dos ameríndios ao território conhecido hoje como Brasil tenha ocorrido por volta de 12.000 anos atrás. Não é possível uma determinação precisa do tamanho da população que habitava este território antes da chegada dos portugueses, devido à precariedade de dados históricos nesse período (84). A Fundação Nacional do Índio (FUNAI)

estima que à época da chegada dos portugueses, o Brasil era habitado por cerca de 5 milhões de ameríndios, e muitos afirmam que os nativos que habitavam a região eram, sobretudo, pertencentes aos grupos Tupi e Jê ou Tapuia (86).

A origem dos povos ameríndios é, no entanto, centro de controvérsia. Estudos genéticos realizados nos últimos anos trouxeram resultados divergentes em relação à data de chegada destes povos à América. Embora haja crescente opinião de que o povoamento americano pode ter se dado antes do que se tem por certo até agora, em torno de 16 mil anos (84,87), datas anteriores a 30 mil anos são consideradas muito improváveis. Tecnicamente, entretanto, se a metade oriental da antiga Beríngia for considerada como parte da América — sendo efetivamente agora o Alasca — o ser humano poderia ter entrado no que hoje é a América em torno de 20 mil anos atrás (88).

A partir da colonização europeia, muitas sociedades indígenas que viviam no território foram sendo exterminadas pela ação de armas, em decorrência do contágio por doenças trazidas dos países distantes ou, ainda, pela aplicação de políticas visando a “assimilação” dos índios à nova sociedade implantada, com forte influência europeia (86).

Atualmente os índios sobrevivem, não apenas biologicamente, mas também do ponto de vista das tradições culturais, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), os quais demonstram que a população indígena apresenta hoje cerca de 220 diferentes povos que somam mais de 800 mil pessoas, que falam 180 línguas distintas (89). Os índios vivem nas mais diversas localidades do território brasileiro e representam, em termos demográficos, um pequeno percentual da população de mais de 213 milhões de habitantes no Brasil. Todavia, são um exemplo concreto e significativo da grande diversidade cultural existente no país.

Os portugueses chegaram ao litoral brasileiro oficialmente em 22 de abril de 1500 e já trouxeram séculos de interação genética e cultural com outros povos de origens geográficas distintas.

Como os portugueses já utilizavam mão de obra escrava africana supõe-se que os primeiros escravos brasileiros tenham vindo junto com a esquadra de Cabral. Os primeiros navios negreiros chegaram ao Brasil em meados do século XVI trazendo escravos para trabalhar na agricultura e na mineração. Registros históricos sugerem que entre os séculos XVI e XIX, o Brasil foi o país para o qual foi trazido o maior número de escravos africanos, aportando cerca de 4 milhões de indivíduos, o equivalente a mais de um terço de todo o comércio negreiro (89).

Entre 1500 e 1978, o Brasil também recebeu outros imigrantes, como os alemães, espanhóis, italianos, sírio-libaneses e japoneses, que também contribuíram para a

heterogeneidade da população brasileira, intensificada e contínua até os dias atuais. Estima-se que 58 % dos imigrantes foram europeus, 40 % africanos e 2 % asiáticos (90). Por fim, houve também um processo de incorporação de várias outras culturas à cultura brasileira, e, conseqüentemente suas características fenotípicas também foram adicionadas à população.

O primeiro estudo sobre a constituição étnica da população brasileira data de 1872, ainda durante o império, e informa que ela seria composta por 2 milhões de negros, 6,5 milhões de brancos, 200 mil índios e 6 milhões de indivíduos miscigenados (91). A distribuição de grupos étnicos baseada no auto-relato da cor de pele é heterogênea entre as regiões geopolíticas brasileiras. De acordo com a Pesquisa Nacional por Amostra Domiciliar (PNAD) realizada em 2010 pelo IBGE (89), cerca de 50 % dos mais de 190 milhões de brasileiros autodeclararam fenótipo de contribuição africana (autodefinidos como negros ou pardos, de acordo com a nomenclatura utilizada no levantamento).

Devido a grande extensão territorial, a distribuição desses grupos no território brasileiro não foi homogênea e reflete-se na composição da população atual, sendo a contribuição dos ameríndios para o *pool* gênico maior no norte, enquanto no nordeste observa-se a maior contribuição africana dentre todas as regiões (92). A população branca está mais concentrada no sul do país, diminuindo à medida que avançamos para as regiões norte e nordeste. A maioria da população negra está localizada nas regiões nordeste e sudeste, apresentando um menor percentual na região sul. A região norte é marcada pela maior presença relativa de ameríndios, porém nota-se uma ligeira queda à medida que rumamos à direção meridional, passando pelas regiões centro-oeste e nordeste, a chegar, por fim, às regiões sudeste e sul, onde se apresentam os menores índices, resultantes do extermínio histórico (93).

Populações miscigenadas podem apresentar subestruturação populacional, ou seja, pode haver diferença significativa em suas composições genéticas. Esse efeito pode levar a interpretação espúria dos resultados de associação, que não se deve à ancestralidade ou aos *loci* estudados em si. Para corrigir efeitos de uma possível subestruturação e se observar o efeito real dos fatores genéticos utilizados, os marcadores informativos de ancestralidade são fundamentais em estudos de associação entre fatores genéticos e condições clínicas.

### **Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs)**

Os *Ancestry Informative Markers* (AIMs, em português, Marcadores Informativos de Ancestralidade), são aqueles que apresentam alto diferencial entre suas frequências alélicas em populações diferentes ou geograficamente distantes. Esses marcadores são especialmente úteis em populações miscigenadas para inferir a ancestralidade de um indivíduo ou estimar proporções de ancestralidade de diferentes origens (94). Consequentemente, os AIMs apresentam um interesse geral em estudos de populações e genética clínica (95).

As populações possuem em sua grande maioria alelos em comum entre elas, mas devido a forças evolutivas como mutação, deriva gênica e seleção natural, populações de diferentes regiões geográficas podem apresentar alelos distintos. O alto grau de similaridade genética reflete a recente distribuição da espécie humana em grupos continentais (94). Os alelos específicos, portanto, apresentam frequências diferenciadas entre populações definidas geográfica, cultural e/ou etnicamente (79,96,97).

Em estudos de associação entre genética e doenças, é de vital importância o uso de marcadores de ancestralidade como variável de controle junto de marcadores genéticos descritos como associados à obesidade em populações que podem apresentar subestruturação gênica, para que se evite a observação de associações errôneas devidas à essa estratificação populacional.

### **Polimorfismos de Inserção/Deleção (InDels)**

Uma classe de polimorfismos de comprimento muito utilizada como marcadores informativos de ancestralidade são os polimorfismos que envolvem inserções/deleções (InDels) de bases.

InDels são uma forma de polimorfismo bialélico. Um InDel é a inserção ou a deleção de um segmento de DNA que varia de um nucleotídeo a centenas de nucleotídeos. Os dois alelos para inserções bialélicas podem ser classificados como “curto” e “longo” (98).

Esses marcadores são ferramentas úteis para estudos populacionais, já que os alelos mais recentes apresentam uma distribuição geográfica restrita, com frequência mais elevada na região onde recentemente surgiu e mais baixa ou até mesmo ausente em outras regiões, enquanto os alelos que surgiram há mais tempo já foram espalhados através de eventos migratórios e se mostram em frequências elevadas em regiões próximas ao seu surgimento. Esse tipo de marcador é de interesse relevante em estudos de ancestralidade, pois permite a identificação de componentes genéticos ancestrais em uma determinada população (96,97).

## Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs)

Os principais marcadores utilizados em estudos de associação entre genes descritos como associados à obesidade e a condição clínica são os SNPs. Esses marcadores são bialélicos e possuem uma abundante variação no genoma (99). Ocorrem em regiões intergênicas não codificantes e em genes (éxons e íntrons) (100). Eles refletem as mutações que ocorreram no passado, em um evento único (101). Em consequência disso, dois indivíduos que compartilham um alelo são marcados com uma herança evolutiva comum. Cerca de 90 % das diferenças na sequência de DNA em humanos são diferenças em um único nucleotídeo (102). Essa abundância no genoma torna os SNPs ideais para análises filogenéticas e de associação entre genética e condições de interesse clínico (100,101).

Por sua herança estável através de gerações, explicada pela sua baixa taxa de mutação, esses marcadores apresentam uma mudança gradual ao longo do tempo, ao contrário de marcadores de mutação rápida, como os microssatélites. Essa relativa constância genética faz com que os SNPs sejam os polimorfismos mais utilizados em estudos de associação entre fatores genéticos e traços relacionados à doenças, tal qual a obesidade.

## Genes associados à obesidade

Com o avanço das tecnologias de análise molecular, houve uma explosão de trabalhos cujo objetivo era a associação entre fatores genéticos e enfermidades. Autores identificaram centenas de genes associados às mais diversas condições clínicas, entre elas a obesidade. A partir dos anos 2000, genes foram identificados como candidatos à susceptibilidade de ganho de massa gorda, aumentando o catálogo de variantes genéticas possivelmente associadas à síndrome.

Diversos estudos apontam para a existência de associação entre obesidade e variantes alélicas de genes tais como *FTO*, *ENPP1*, *MC4R*, *NEGR1*, *THSD7A*, *TMEM18*, *PONI*. Esses genes estão relacionados à obesidade por suas atuações principalmente ao nível do sistema nervoso central e do metabolismo energético (103–107). Willer et al. (19) confirmaram que variantes dos genes *FTO* e *MC4R* atuam através do sistema nervoso e influenciam em mecanismos do comportamento alimentar, como apetite, saciedade e recompensa, e têm consequente papel na regulação da massa corporal. Identificaram-se ainda seis novos *loci* passíveis dessa associação, dentre eles *KCTD15*, *GNPDA2*, *SH2B1* e *MTCH2*.

O *MC4R* é um gene que codifica o receptor da melanocortina 4. Esse gene é expresso no tecido adiposo, tecido muscular e em várias regiões do cérebro, principalmente no núcleo hipotalâmico, onde desempenha um papel central no controle do balanço energético e da ingestão alimentar (20,108,109). A proteína codificada interage com os hormônios adrenocorticotróficos (ACTH) e os estimulantes de melanócitos (MSH), e o resultado dessa interação é mediado pelas proteínas G, resultando na liberação de cortisol pelas glândulas adrenais, e conseqüente efeito no comportamento alimentar. Esse gene possui um alelo associado à obesidade humana hereditária e a diferentes características da obesidade (19,20,110–112).

Concluiu-se em um estudo que, em 750 homens dinamarqueses com desenvolvimento de obesidade juvenil, a frequência do alelo mutante de risco foi de 2,5 %, confirmando que variações no gene *MC4R* são uma das causas genéticas identificadas mais comuns de obesidade (113).

Conhecido como gene associado à massa gorda e obesidade, o *FTO* tem sido descrito como tendo um papel na regulação do IMC (19), e apresentar uma associação direta com a obesidade, principalmente em populações europeias. Um aumento da expressão do alelo de risco do *FTO* pode levar ao aumento da massa gorda e obesidade por meio do consumo alimentar excessivo (114).

Os níveis mais elevados de mRNA do gene *FTO* são encontrados no hipotálamo, principalmente no núcleo arqueado. O núcleo arqueado tem um papel importante no controle da ingestão alimentar, o que sugere que esse gene pode atuar no gerenciamento do balanço energético (115).

Observou-se em um trabalho que a expressão do gene *FTO* foi regulada positivamente no hipotálamo de ratos após a privação de comida e inversamente correlacionada com a expressão do peptídeo semelhante à galanina orexigênica, que está envolvido na estimulação da ingestão de alimentos (116). Aumentos na expressão hipotalâmica desse gene estão associados à regulação da ingestão de energia, mas não à recompensa alimentar (117).

Em particular, europeus com uma cópia do alelo de risco pesavam em média 1,2 kg a mais do que as pessoas sem nenhuma cópia. Portadores de duas cópias (16 % dos indivíduos) pesavam 3 quilos a mais e apresentavam maior índice de obesidade do que aqueles sem cópias (118).

Expresso nos sistemas nervosos central e endócrino (adrenais), o gene *FAIM2* é um inibidor da apoptose, possivelmente relacionado à obesidade. No entanto, os mecanismos pelos quais está envolvido na obesidade não são totalmente compreendidos. Alterações epigenéticas

podem ser as responsáveis por essa associação. Os níveis de metilação em oito locais no promotor do gene foram significativamente diferentes entre indivíduos obesos e magros (119). Esse estudo forneceu a primeira evidência de que os níveis de metilação do promotor *FAIM2* estão significativamente associados à obesidade. Outros autores observaram que uma variante alélica está associada à incidência de obesidade em pacientes chineses Han (120) e em indivíduos que mantêm uma dieta mediterrânea (121).

O gene *BDNF* codifica um membro da família das proteínas do fator de crescimento neuronal e sua associação com a obesidade é contestada. Esse gene tem papel fundamental na sobrevivência, maturação e diferenciação neuronal durante o desenvolvimento do hipotálamo, onde auxilia na modulação do metabolismo energético (19,122).

Xu et al. (123) descobriram que, semelhante às mutações no *MC4R*, camundongos com mutações no *BDNF* apresentaram hiperfagia e obesidade quando adultos jovens, sugerindo um papel para esse gene no balanço energético.

Dado o sucesso limitado do mapeamento genético na identificação de variantes comuns ou raras que explicam a variação fenotípica em características relacionadas à obesidade, a investigação das interações entre fatores genéticos, ambientais e condições clínicas torna-se fundamental na compreensão de como marcadores genéticos podem impactar a adiposidade, obesidade e suas manifestações metabólicas, como destacou Kaiser (124).



## JUSTIFICATIVA

Muitos pesquisadores consideram que o "The Big Two" — padrões de dieta e atividade física — não é suficiente para explicar, isoladamente, o crescimento mundial arrebatador da obesidade nas últimas décadas, que também é observado em populações animais (71). Portanto, a pesquisa científica vem incorporando temas adicionais, que em conjunto constituiriam palco para as causas da obesidade. Diversos autores sugerem uma associação entre a obesidade e diversos genes, muitos deles altamente expressos ou que atuam ao nível do sistema nervoso central (19). Outros relatam uma correlação entre ancestralidade e obesidade infantil (125,126). Essas correlações têm sido inferidas em várias populações ou subgrupos populacionais ao redor do mundo, a partir de análises de diversos polimorfismos (13,24). No entanto, em populações miscigenadas, estudos de associação entre genética e adiposidade podem ser dificultados pela presença de subestruturação populacional. Neste caso, é necessário o uso de AIMs para eliminar associações espúrias e prevenir erros estatísticos do Tipo I e do Tipo II (127).

O aumento da adiposidade e conseqüente obesidade é uma condição multifatorial e complexa. Estudos multifatoriais que consideram aspectos genéticos, ambientais, sociais e culturais são cada vez mais fundamentais para que se entenda a complexidade dessa síndrome e como ela se desenvolve.

A presente pesquisa destaca-se pelo ineditismo em associar fatores genéticos e marcadores relacionados à obesidade na população em que se propôs a analisar, de forma a acrescentar conhecimento e informações ainda desconhecidos.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1. Geral

- a) Investigar associações independentes entre marcadores genéticos, de ancestralidade e em genes descritos como associados à obesidade, e marcadores de adiposidade.

### 1.2. Específicos

- a) Identificar a contribuição ancestral europeia, africana e ameríndia em cada indivíduo da amostra de estudo, através da genotipagem de 46 AIM-InDels autossômicos;
- b) Determinar o genótipo de cada indivíduo da amostra para quatro SNPs localizados em genes associados à obesidade: rs17782313 (*MC4R*), rs9939609 (*FTO*), rs7138803 (*FAIM2*), rs4074134 (*BDNF*);
- c) Verificar se há subestruturação populacional na amostra de estudo para os 50 marcadores genéticos (46 AIM-InDels e 4 SNPs), através de testes ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg;
- d) Analisar por regressão linear se há associação estatisticamente significativa entre as ancestralidades europeia, africana e ameríndia da amostra e os marcadores de adiposidade;
- e) Determinar na amostra se há associação estatisticamente significativa entre os SNPs localizados nos genes descritos como associados à obesidade e marcadores relacionados a esta, através de testes de regressão linear.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Amostras e extração de DNA

Neste trabalho foram analisadas amostras de DNA de 501 indivíduos adultos não aparentados do Estado do Rio de Janeiro, participantes do Estudo Pró-Saúde (EPS). O EPS é um estudo longitudinal prospectivo com funcionários públicos não docentes de campi universitários no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, que tem como foco a investigação dos determinantes sociais e comportamentais relacionados à saúde (128). Quatro ondas de coleta de dados foram conduzidas entre 3.253 participantes (1999, 2001-2, 2006-7 e 2012-13). Durante a quarta onda de coleta de dados, uma amostra de 520 participantes foi selecionada. Essa amostra foi definida considerando as proporções dos estratos de gênero, idade (até 50 anos vs. 51 anos ou mais) e grau de escolaridade (até segundo grau completo vs. universitário completo ou mais) na população da coorte, para realizar avaliações adicionais, incluindo a composição corporal por absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA) e análises de ancestralidade genética.

Todas as amostras foram coletadas sob consentimento livre e esclarecido e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Social da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (CAAE 0041.0.259.000-11 e 04452412.0.0000.5260). Todos os procedimentos realizados neste estudo envolvendo participantes humanos estavam de acordo com os princípios éticos da Declaração de Helsinque de 2000 da Associação Médica Mundial (129).

A extração e purificação do DNA de leucócitos foram realizadas utilizando-se o kit comercial (*Puregene Blood Kit*, Qiagen, Düsseldorf, Alemanha). Foram avaliadas a qualidade e a integridade do DNA via eletroforese em gel de agarose 0,8 %. As amostras de DNA foram quantificadas por meio de espectrofotometria em NanoDrop (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EUA), aliqüotadas e armazenadas a -80 °C até sua utilização.

## 2.2. Genotipagem dos 46 AIM-InDels

A fim de estimar as proporções de ancestralidade africana, europeia e ameríndia de cada indivíduo analisado neste estudo, foi utilizado um método de análise por *Polymerase Chain Reaction* (PCR, em português, Reação em Cadeia da Polimerase) multiplex composto por 46 AIM-InDels. A lista dos marcadores amplificados nesse multiplex, a descrição dos alelos e suas localizações físicas são mostradas na tabela 2.

Tabela 2 - AIM-InDels utilizados neste estudo, incluindo a localização de cada marcador no genoma e os alelos relatados

Código rs	MID*	Cromossomo	Posição (bp)**	Alelos descritos no dbSNP
rs2307666	MID-1470	11	64729920	-/GTTAC
rs1610863	MID-777	16	6551830	-/GAA
rs16635	MID-196	6	99789775	-/CAT
rs1610965	MID-881	5	79746093	-/ACTT
rs35451359	MID-3122	18	45110983	-/ATCT
rs140837	MID-548	6	3708909	-/CT
rs1160893	MID-659	2	224794577	-/CT
rs2308203	MID-2011	2	109401291	-/CTAGA
rs33974167	MID-2929	8	87813725	-/TA
rs1160852	MID-593	6	137345857	-/TT
rs1610884	MID-798	5	56122323	-/GGAAA
rs2067280	MID-1193	5	89818959	-/AT
rs2308067	MID-1871	7	127291541	-/TT
rs4183	MID-17	3	3192524	-/TAAC
rs3054057	MID-2538	15	86010538	-/AACA
rs2307840	MID-1644	1	36099090	-/GT
rs60612424	MID-3854	6	84017514	-/TCTA
rs3033053	MID-2275	14	42554496	-/TCAGCAG
rs16384	MID-94	22	42045009	-/AAC
rs34611875	MID-3072	18	67623917	-/GCCCCCA
rs1610859	MID-772	5	128317275	-/TAG
rs3045215	MID-2313	1	234740917	-/ATTATAACT
rs25621	MID-397	6	139858158	-/TTCT
rs2307832	MID-1636	1	55590789	-/AA
rs16343	MID-51	4	17635560	-/TTTAT
rs3031979	MID-2431	8	73501951	-/ATTG
rs34122827	MID-2264	13	63778778	-/AAGT
rs133052	MID-2256	22	41042364	-/CAT
rs6490	MID-128	12	108127168	-/ATT
rs4181	MID-15	2	42577803	-/AAATACACAC
rs3030826	MID-2241	6	67176774	-/GTCCAATA
rs140708	MID-419	6	170720016	-/AATGGCA
rs1611026	MID-943	5	82545545	-/TGAT
rs16438	MID-159	20	25278470	-/CCCCA
rs2308161	MID-2005	10	69800909	-/AACAAAT
rs16687	MID-250	7	83887882	-/CA
rs2307998	MID-1802	5	7814345	-/GGA
rs2307803	MID-1607	3	108981031	-/TG
rs2307930	MID-1734	6	84476378	-/CCAT
rs25630	MID-406	6	14734341	-/AG
rs2307582	MID-1386	1	247768775	-/AAACTATTCATTTTTCACCT
rs2307922	MID-1726	1	39896964	-/CAAGAACTATAAT/CACTATCTATTAT
rs11267926	MID-3626	15	45526069	-/AATATAATTTCTCCA
rs25584	MID-360	12	112145217	-/AA
rs2307799	MID-1603	5	70828427	-/TTGT
rs34541393	MID-2719	20	30701405	-/AACT

Legenda: \*: nomenclatura dos marcadores de acordo com Weber et al. (130) e com o banco de dados *Marshfield Diallelic Insertion/Deletion Polymorphisms*. \*\*: listagem dos marcadores de acordo com dbSNP (*build 132*).

Fonte: Pereira et al. (97).

Os 46 AIM-InDels analisados foram selecionados por apresentarem diferenças significativas na distribuição das frequências alélicas entre africanos, europeus, ameríndios e

asiáticos. Sendo assim, esse sistema de 46 AIM-InDels permite medir eficientemente proporções de mistura/miscigenação de quatro origens continentais diferentes (África, Europa, América e Leste Asiático) em uma só reação (97).

Na PCR utilizou-se o kit QIAGEN Multiplex PCR (Qiagen). A mistura de reação foi composta por master mix a 1x (Qiagen), 0,5 µL do primer mix com 0,1 µM dos primers de todos os 46 marcadores (97) e 0,5 µL do primer mix de reforço com 0,2 µM dos primers de 7 marcadores contidos no multiplex, são eles: MID-196, MID-881, MID-3854, MID-772, MID-943, MID-3626, MID-2719; 1,0 µL de água ultrapura esterilizada Milli-Q® e 0,5 ng de DNA genômico na reação, em 5 µL de volume final. As condições termocíclicas foram: desnaturação inicial a 95 °C por 15 min; 25 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 90 s, e 72 °C por 45 s; e extensão final a 72 °C por 60 min. Dos produtos das PCRs foram aliqüotados 1 µL e misturados a 9 µL de formamida.

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese capilar pelo sistema de análise molecular ABI3500 (*Life Technologies*).

A análise dos produtos amplificados e a nomeação dos alelos foram feitas com o software GeneMapper ID-X v1.2 e/ou GeneMapper ID v4.1 (*Life Technologies*).



rs7138803-*FAIM2* (G > A) e rs4074134-*BDNF* (C > T). A genotipagem foi realizada por qPCR com parâmetros de ciclagem padrão para testes TaqMan® (Thermo Fisher Scientific).

A discriminação alélica por PCR em tempo real pelo ensaio TaqMan® foi usada para a genotipagem. As sondas e os primers foram projetados pela Thermo Scientific Inc. A PCR em tempo real foi realizada em um sistema Step One Plus Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific). Os resultados foram analisados usando o software SDS 2.3 (Thermo Fisher Scientific).

## 2.4 Marcadores de adiposidade

A massa corporal total e a massa total de gordura corporal foram aferidas por absorciometria de raios-X de dupla energia (DXA), com equipamento iDXA Lunar (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) e software enCORE 2008 versão 12.20 (iDXA GE Medical Systems enCORE Manual do Operador e Informações do Produto). A porcentagem de gordura corporal (GORD C.) foi derivada da massa total e da massa total de gordura (massa total de gordura/massa total x100).

Para o exame de corpo inteiro, os participantes utilizaram roupas leves e sem acessórios que pudessem enviesar as medições. A seguir foram colocados em decúbito dorsal e solicitados a permanecer imóveis até o final do procedimento. Todas as varreduras DXA foram realizadas pelo mesmo profissional treinado e seguiram os procedimentos de controle de qualidade padrão de acordo com o fabricante. O equipamento foi calibrado diariamente de acordo com o protocolo do manual (iDXA GE Medical Systems enCORE Manual do Operador e Informações do Produto).

Para o exame de circunferência da cintura (CC) e medida do quadril, em centímetros (cm), os participantes foram recomendados a usar roupas leves e sem acessórios de metal, de acordo com o protocolo padrão (131). A relação cintura-quadril (RCQ) foi resultante da divisão da circunferência da cintura pela medida do quadril.

A altura foi medida com estadiômetro de parede com precisão de 0,1 cm, enquanto os indivíduos permaneceram descalços na posição ortostática e com a cabeça orientada na posição horizontal do plano de Frankfurt. O cálculo do IMC foi resultante da massa total e altura ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).



## 2.5 Análise estatística

Os testes ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), para os marcadores de ancestralidade e os SNPs, foram efetuados utilizando o software Arlequin versão 3.5 (132).

As estimativas de ancestralidade de cada indivíduo foram realizadas no software STRUCTURE v2.3.4 (133), usando dados de populações africanas, europeias e nativas do painel de diversidade HGDP-CEPH como referência (97). Os dados das populações de referência incluíram 98 indivíduos africanos, 147 europeus e 51 nativos americanos.

A análise de *clustering* foi realizada no software STRUCTURE usando um período de 100.000 *burnin steps*, seguido por 100.000 iterações *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC). Na análise, foram assumidos três *clusters* (K) e, para verificar a consistência dos resultados, foram realizadas cinco análises independentes. Os resultados das cinco análises foram combinados usando o software CLUMPP v.1.1.222 (134) para obter a melhor estimativa dos coeficientes de associação do *cluster*.

A normalidade das variáveis contínuas foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk. Todas as variáveis contínuas apresentaram distribuição normal.

Foram utilizadas regressões lineares com modelos hierárquicos para examinar as associações entre cada proporção de ancestralidade genética e cada genótipo dos quatro SNPs com características relacionadas à obesidade na população amostrada. Devido ao fato de alguns indivíduos não possuírem informações para dois traços de adiposidade — IMC e porcentagem de gordura corporal —, a amostra varia nas análises de 498 a 501 indivíduos.

Cada ancestralidade — africana, europeia e ameríndia — foi utilizada como variável contínua, através de suas proporções. Para fazer as associações, foram utilizados quatro marcadores de adiposidade: IMC, circunferência da cintura, razão cintura-quadril e porcentagem de gordura corporal. Para evitar associações espúrias, as seguintes variáveis de controle foram incluídas na análise entre ancestralidade e adiposidade: idade, gênero e renda. Para a análise entre os genótipos dos SNPs e as medidas relacionadas à obesidade, foram utilizadas todas as variáveis de controle anteriores, com a adição da variável ancestralidade. Cada genótipo foi transformado em variável *dummy* para que fosse possível utilizar regressões lineares. As análises estatísticas foram realizadas no software IBM SPSS versão 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA) e 0,05 foi considerado como o nível de significância estatística.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.2 Análise de subestruturação populacional

Quando em uma população os cruzamentos entre indivíduos não ocorrem de forma aleatória, diz-se que a população está subestruturada. Em populações recentemente miscigenadas, a presença de subestrutura implica a existência de grupos com diferenças em sua composição genética. Estas diferenças devem ser tidas em conta em estudos de associação, quando se comparam duas ou mais amostras populacionais. É necessário ter cuidado com populações subestruturadas, pois podem levar a resultados espúrios de associação. Para verificar se a população se encontra subestruturada, foram realizados testes ao EHW, para todos os marcadores genéticos estudados. Na tabela 3, encontram-se detalhados os valores de heterozigosidade observada, esperada e correspondentes valores de  $p$ .

Dos marcadores de ancestralidade (46 AIM-InDels), 14 tiveram suas heterozigosidades observadas significativamente menores das esperadas ( $p < 0,05$ ): MID-881, MID-3122, MID-593, MID-1644, MID-3854, MID-3072, MID-2264, MID-419, MID-493, MID-159, MID-2005, MID-1802, MID-1386 e MID-3626.

Para os SNPs rs17782313 (MC4R), rs9939609 (FTO), rs7138803 (FAIM2) e rs4074134 (BDNF), o SNP rs4074134 (BDNF) teve sua heterozigosidade observada (0,309) significativamente menor ( $p = 0,001$ ) da esperada (0,395).

Observa-se que a população estudada está em Desequilíbrio de Hardy-Weinberg, ou seja, ela se encontra subestruturada. Esses resultados mostram que sua carga homozigótica é maior do que seria esperado se ela não apresentasse subestrutura. Em estudos de associação, quando uma população está subestruturada — com diferenças em sua composição genética —, associações espúrias entre fatores genéticos e características ligadas a doenças podem surgir de diferenças na ancestralidade que não estão relacionadas ao risco da doença em si.

A utilização dos AIMS como fator de correção nas análises de associação entre os SNPs associados à obesidade e marcadores relacionados à condição clínica é vital para que esses efeitos de subestruturação não enviesem os resultados e levem a interpretações errôneas.

Tabela 3 - Resultados dos testes ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg

<b>Marcador</b>			
<b>46 AIM-InDels (n = 501)</b>	<b>Het. Obs.</b>	<b>Het. Esp.</b>	<b>p-valor</b>
MID-1470	0,473	0,495	0,357
MID-777	0,473	0,449	0,271
MID-196	0,493	0,500	0,787
MID-881	0,309	0,366	<b>0,001</b>
MID-3122	0,174	0,219	<b>0,001</b>
MID-548	0,403	0,396	0,736
MID-659	0,242	0,259	0,167
MID-2011	0,451	0,491	0,091
MID-2929	0,415	0,415	1,000
MID-593	0,246	0,342	<b>0,001</b>
MID-798	0,477	0,500	0,263
MID-1193	0,281	0,270	0,505
MID-1871	0,337	0,335	1,000
MID-17	0,463	0,499	0,108
MID-2538	0,387	0,418	0,109
MID-1644	0,331	0,385	<b>0,003</b>
MID-3854	0,293	0,351	<b>0,001</b>
MID-2275	0,323	0,339	0,355
MID-94	0,281	0,286	0,755
MID-3072	0,289	0,391	<b>0,001</b>
MID-772	0,118	0,114	1,000
MID-2313	0,348	0,344	0,895
MID-397	0,397	0,411	0,514
MID-1636	0,471	0,472	1,000
MID-51	0,477	0,495	0,421
MID-2431	0,212	0,217	0,541
MID-2264	0,525	0,528	<b>0,001</b>
MID-2256	0,291	0,300	0,551
MID-128	0,387	0,412	0,190
MID-15	0,454	0,488	0,121
MID-2241	0,453	0,467	0,564
MID-419	0,236	0,271	<b>0,004</b>
MID-943	0,417	0,483	<b>0,001</b>
MID-159	0,457	0,486	<b>0,004</b>
MID-2005	0,436	0,500	<b>0,006</b>
MID-250	0,405	0,421	0,457
MID-1802	0,234	0,265	<b>0,017</b>
MID-1607	0,367	0,365	0,903
MID-1734	0,309	0,317	0,656
MID-406	0,447	0,491	0,057
MID-1386	0,299	0,334	<b>0,023</b>
MID-1726	0,482	0,497	0,530
MID-3626	0,451	0,500	<b>0,031</b>
MID-360	0,393	0,402	0,482

MID-1603	0,414	0,439	0,222
MID-2719	0,473	0,482	0,713
<b>SNPs (n = 501)</b>	<b>Het. Obs.</b>	<b>Het. Esp.</b>	<b>p-valor</b>
rs17782313 ( <i>MC4R</i> )	0,327	0,337	0,510
rs9939609 ( <i>FTO</i> )	0,487	0,489	1,000
rs7138803 ( <i>FAIM2</i> )	0,425	0,409	0,443
rs4074134 ( <i>BDNF</i> )	0,309	0,395	<b>0,001</b>

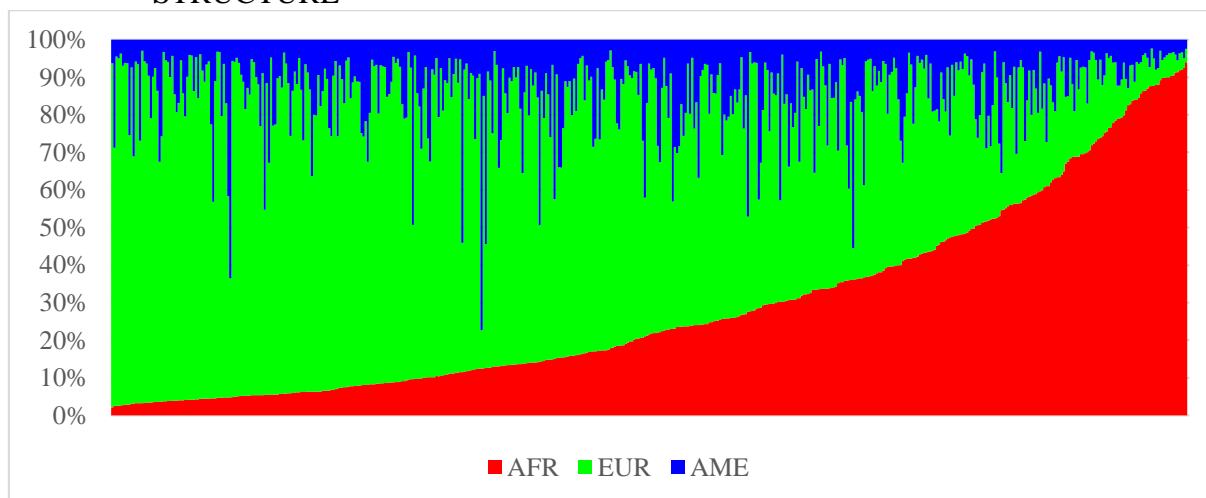
### 3.3 Ancestralidade genética

Neste estudo, um conjunto de 46 AIM-InDels foi analisado na população fluminense, com o objetivo de estimar as proporções de ancestralidade africana, europeia e ameríndia em cada um dos indivíduos amostrados.

Quando comparado o resultado às populações de referência (africana, europeia e nativa americana), a diversidade genética média foi maior na amostra do Estado do Rio de Janeiro, como seria o esperado após cinco séculos de mistura entre indivíduos de diferentes origens continentais.

Utilizando o painel de diversidade HGDP-CEPH como referência, avaliou-se proporções de mistura na fração populacional do Estado do Rio de Janeiro com o software STRUCTURE. Considerando os registros históricos de uma contribuição essencialmente tri-híbrida de ameríndios, europeus e africanos para a formação da atual população brasileira, neste trabalho, foi estimada a mistura individual e populacional destas proporções, assumindo-as como as três principais populações ancestrais. Os indivíduos revelaram padrões de mistura altamente variáveis numa população de ascendência predominantemente europeia (57,2 %) seguida por africana (28,8 %) e ameríndia (14 %). A variação na ancestralidade nativa americana foi relativamente pequena (Mín = 0,023, Máx = 0,773, SD = 0,105, Variância = 0,011) em comparação com a africana (Mín = 0,021, Máx = 0,940, SD = 0,246, Variância = 0,061) e a europeia (Mín = 0,027, Máx = 0,940, SD = 0,249, Variância = 0,062) (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Proporções de ancestralidade de cada indivíduo da amostra populacional do Estado do Rio de Janeiro, utilizando os 46 AIM-InDels e obtidas pelo software STRUCTURE



Legenda: Gráfico de barras, onde cada barra representa um indivíduo. As análises foram realizadas usando populações de referência (opção USEPOPINFO no STRUCTURE), e considerando  $K = 3$  (100.000 *burnin steps* seguidas por 100.000 iterações MCMC).

Fonte: O autor, 2021.

A entrada de europeus e africanos no país é historicamente bem documentada e apoiada geneticamente por estudos anteriores usando marcadores uniparentais, que mostraram evidência clara de uma mistura enviesada envolvendo predominantemente descendentes de homens europeus e mulheres africanas ou nativas (135–137).

Estudos usando AIMs autossômicos demonstraram uma herança essencialmente tri-híbrida e uma ascendência predominantemente europeia para a maioria das populações brasileiras, com algumas diferenças nas proporções dependendo da região geográfica considerada ou em determinados grupos étnicos autodeclarados (93,138).

Os resultados aqui presentes também estão de acordo com o que foi verificado por Manta et al. (139), que caracterizaram a população do Rio de Janeiro através dos 46 AIM-InDels, e observaram ancestralidade majoritariamente europeia (55,2 %), seguida de africana (31,1 %) e ameríndia (13,7 %). Tais resultados mais que corroboram outros trabalhos e, principalmente, a origem, construção e constituição histórica da população brasileira.

As variações nos valores médios de ancestralidade genética entre homens e mulheres mostraram diferenças estatisticamente significativas ( $p = 0,001$ ) quanto às proporções de ancestralidade africana e europeia. Já para a ancestralidade nativa americana, a diferença não foi estatisticamente significativa. Os resultados das médias na amostra da população, como seus respectivos desvios padrão e valores de  $p$  são mostrados na tabela 4.

Tabela 4 - Diferenças nas médias das ancestralidades genéticas por gênero na amostra populacional. O desvio padrão e o nível de significância também são mostrados

Ancestralidade	Gênero	N	Média	SD	<i>p</i> -valor
AFR	Homens	240	0,242	0,211	0,001
	Mulheres	261	0,331	0,268	
EUR	Homens	240	0,612	0,224	0,001
	Mulheres	261	0,535	0,265	
AME	Homens	240	0,147	0,110	0,172
	Mulheres	261	0,134	0,099	

Legenda: N: número de indivíduos, SD: Desvio Padrão.

### 3.4 População amostral quanto aos marcadores de adiposidade

As características quantitativas da amostra para cada marcador de adiposidade estão resumidas nas tabelas de estatísticas descritivas (Tabelas 5 e 6). As diferenças nos valores médios entre homens e mulheres para os traços relacionados à obesidade revelaram que apenas para o IMC as variações não foram estatisticamente significativas ( $p = 0,635$ ).

Tabela 5 - Médias dos indivíduos amostrados, desvio padrão e *p*-valores entre homens e mulheres

	Total / Gênero	N	Média	SD	<i>p</i> -valor (entre homens e mulheres)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Total	498	28,04	5,05	0,635
	Homens	240	27,93	4,58	
	Mulheres	258	28,15	5,46	
CC (cm)	Total	501	97,10	12,47	0,003
	Homens	240	98,81	12,35	
	Mulheres	261	95,53	12,38	
RCQ	Total	501	0,94	0,08	0,001
	Homens	240	0,97	0,06	
	Mulheres	261	0,90	0,07	
GORD C. (%)	Total	498	36,26	8,32	0,001
	Homens	240	30,42	6,40	
	Mulheres	258	41,69	5,84	

Legenda: IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da Cintura; RCQ: Razão Cintura-Quadril; GORD C.: Gordura Corporal; N: número de indivíduos, SD: Desvio Padrão.

Em estudos que envolvem a aferição da composição corporal, o método DXA reflete com precisão as medidas de adiposidade. Um diferencial desse método é que ele permite quantificações precisas da gordura corporal total, bem como sua distribuição e localização. O DXA é considerado o padrão ouro em estudos de validação de métodos e equações, além de ser não invasivo, preciso e automático (140).

Os quatro marcadores de adiposidade apresentam valores referenciais de corte específicos para sobrepeso, obesidade, e seus consequentes riscos metabólicos. De acordo com a OMS (141), os valores de corte de IMC para pessoas eutróficas (não obesas e sem sobrepeso), pessoas com sobrepeso e pessoas obesas são, respectivamente: entre 18,5 kg/m<sup>2</sup> e 24,9 kg/m<sup>2</sup>, entre 25 kg/m<sup>2</sup> e 29,9 kg/m<sup>2</sup> e acima de 30 kg/m<sup>2</sup>. Para o percentual de gordura corporal, os valores de corte têm sido questionados. Devido ao fato da gordura corporal ser um grande fator de risco para complicações metabólicas, neste estudo foi utilizado 25 % ou mais para homens e 35 % ou mais para mulheres, baseado em Grundy (142). Segundo a OMS (143), os valores referenciais de corte da razão cintura-quadril são acima de 1 para alto risco nos homens e acima de 0,85 para alto risco nas mulheres. Para a circunferência da cintura, os valores de corte para riscos metabólicos são entre 94 e 102 cm para risco aumentado e acima de 102 cm para risco muito aumentado nos homens, e entre 80 e 88 cm para risco aumentado e acima de 88 cm para risco muito aumentado nas mulheres. Na tabela 6 é apresentada a caracterização detalhada dos indivíduos de acordo com essas classificações.

Tabela 6 - Caracterização dos indivíduos quanto ao sobrepeso, obesidade e riscos metabólicos para cada marcador de adiposidade, de acordo com a OMS

	<b>Total / Gênero</b>	<b>Sem Sobrepeso / Obesidade</b>	<b>Sobrepeso</b>	<b>Obesos</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	Total (498)	138 (27,71 %)	203 (40,76 %)	157 (31,53 %)
	Homens (240)	66 (27,50 %)	98 (40,83 %)	76 (31,67 %)
	Mulheres (258)	71 (27,52 %)	105 (40,70 %)	82 (31,78 %)
		<b>Baixo Risco</b>	<b>Risco Aumentado</b>	<b>Risco Muito Aumentado</b>
<b>CC (cm)</b>	Homens (240)	83 (34,58 %)	65 (27,08 %)	92 (38,34 %)
	Mulheres (261)	24 (9,20 %)	51 (19,54 %)	186 (71,26 %)
		<b>Baixo Risco</b>	<b>Alto Risco</b>	
<b>RCQ</b>	Homens (240)	154 (64,17 %)	86 (35,83 %)	
	Mulheres (261)	54 (20,69 %)	207 (79,31 %)	
		<b>Sem Sobrepeso / Obesidade</b>	<b>Com Sobrepeso / Obesidade</b>	
<b>GORD C. (%)</b>	Homens (240)	49 (20,42 %)	191 (79,58 %)	
	Mulheres (258)	36 (13,95 %)	222 (86,05 %)	

Legenda: IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da Cintura; RCQ: Razão Cintura-Quadril; GORD C.: Gordura Corporal.

### 3.5 Associação entre ancestralidade genética e os marcadores de adiposidade

Todas as correlações encontradas entre as ancestralidades e os marcadores de adiposidade foram fracas de acordo com seus índices (Tabela 7). Não foram encontradas associações estatisticamente significativas. Na análise sem a inclusão de variáveis de correção, de acordo com o coeficiente de regressão não padronizado ( $\beta$ ), foi encontrada uma associação direta estatisticamente significativa entre a ancestralidade africana e o percentual de gordura corporal ( $\beta = 3,170$ ).

Para evitar interpretações espúrias de associação devido à variação da amostra em idade, gênero e renda, uma nova análise foi realizada controlando essas variáveis. Não foram detectadas associações estatisticamente significativas na nova análise. O novo valor de  $p$  ficou acima do nível de significância entre a ancestralidade africana e o percentual de gordura corporal ( $p = 0,465$ ), o que indica um impacto das variáveis de controle na análise não controlada.



Tabela 7 - Resultados de associação e correlação, assim como intervalos de confiança e valores de *p* para as análises de associação entre as ancestralidades genéticas e os marcadores de adiposidade

Ancestralidade	IMC (kg/m <sup>2</sup> ) n = 498	CC (cm) n = 501	RCQ n = 501	GORD C. (%) n = 498
	β (IC 95 %) / r / <i>p</i> -valor - sem variáveis de controle			
<b>AFR</b>	1,051 (-0,756, 2,859) / 0,051 / 0,254	-0,313 (-4,763, 4,137) / -0,006 / 0,890	-0,018 (-0,045, 0,008) / -0,061 / 0,176	3,170 (0,204, 6,137) / 0,094 / <b>0,036</b>
<b>EUR</b>	-0,597 (-2,386, 1,192) / -0,029 / 0,512	1,468 (-2,930, 5,866) / 0,029 / 0,512	0,018 (-0,008, 0,045) / 0,061 / 0,172	-1,881 (-4,817, 1,056) / -0,056 / 0,209
<b>AME</b>	-2,417 (-6,664, 1,829) / -0,050 / 0,264	-6,533 (-16,967, 3,900) / -0,055 / 0,219	-0,002 (-0,065, 0,061) / -0,003 / 0,954	-6,813 (-13,772, 0,146) / -0,086 / 0,055
	β (IC 95 %) / r / <i>p</i> -valor - com as variáveis de controle idade, gênero e renda			
<b>AFR</b>	0,784 (-1,128, 2,696) / 0,036 / 0,421	0,202 (-4,476, 4,881) / 0,004 / 0,932	-0,007 (-0,032, 0,017) / -0,027 / 0,553	-0,874 (-3,191, 1,444) / -0,033 / 0,459
<b>EUR</b>	-0,264 (-2,135, 1,606) / -0,013 / 0,781	1,198 (-3,376, 5,772) / 0,023 / 0,607	0,009 (-0,015, 0,033) / 0,033 / 0,469	1,517 (-0,743, 3,777) / 0,059 / 0,188
<b>AME</b>	-2,518 (-6,786, 1,750) / -0,052 / 0,247	-7,237 (-17,664, 3,191) / -0,061 / 0,173	-0,009 (-0,064, 0,046) / -0,015 / 0,746	-3,560 (-8,721, 1,602) / -0,061 / 0,176

Legenda: IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da Cintura; RCQ: Razão Cintura-Quadril; GORD C.: Gordura Corporal; IC: Intervalo de Confiança.

É importante ressaltar que, em geral, tanto na população do Estado do Rio de Janeiro (139) quanto nesta amostra populacional do Estado, a maioria dos indivíduos possui baixa ascendência indígena, e a variação na contribuição africana é complementar à europeia. Isso pode explicar as associações inversas observadas para essas duas ancestralidades.

Em geral, estudos que examinam associações entre as ancestralidades europeia ou africana usando AIMS e marcadores de adiposidade, como o IMC, relatam resultados uniformes para essas ancestralidades. Associações diretas e inversas são observadas entre as porções ancestrais africana e europeia, respectivamente, e marcadores de adiposidade. Associações inversas também foram observadas com a ancestralidade ameríndia. Os autores enfatizam, no entanto, o importante papel do ambiente nesses resultados (26,58,63,69,144–147).

No estudo realizado por Nassir et al. (69) em participantes afro-americanas e hispano-americanas em pós-menopausa do *Women's Health Initiative* (WHI), foram encontradas associações diretas significativas entre ascendência africana e IMC na população em geral, bem como em subgrupos de afro-americanas e hispano-americanas. Entretanto, quando a razão cintura-quadril foi usada como parâmetro de obesidade, uma associação direta significativa mais fraca com ancestralidade africana foi encontrada na população em geral e não observada entre afro-americanas ou hispano-americanas. Curiosamente, a ascendência ameríndia foi diretamente associada com a razão cintura-quadril, mas não com o IMC na população em geral.

A ancestralidade ameríndia apresentou associações inversas para todos os marcadores relacionados à obesidade utilizados neste estudo. Uma das explicações pode ser a dieta. Goonesekera et al. (144) observaram evidências de efeito de modificação das associações entre a ancestralidade nativa-americana e a adiposidade pela dieta. Indivíduos com esta ascendência que tiveram uma pontuação de alimentação saudável relativamente alta, tiveram associações inversas com todas as medidas de adiposidade, embora nem todos os resultados tenham alcançado significância estatística.

O presente estudo não replicou os achados anteriores de que as ancestralidades europeia, africana e ameríndia estão associadas ao IMC, circunferência da cintura, proporção cintura-quadril e porcentagem de gordura corporal. As diferenças nas condições ambientais, sociais, econômicas e culturais entre as populações investigadas nos diferentes estudos podem explicar a presente falta de associação. No entanto, os presentes resultados devem ser replicados em amostras maiores usando populações da mesma origem.

Ao estudar características relacionadas à saúde, biodiversidade e à variabilidade atribuídas ao uso de estimativas de ancestralidade genética, estas não devem ser simplesmente substituídas pela simples classificação de etnia, mas utilizadas em conjunto. Embora a autodeclaração de etnia seja de mais fácil acesso e importante para a identificação pessoal, podendo atuar como um substituto para fornecer informações sobre os fatores culturais e ambientais que afetam as características fenotípicas de uma população miscigenada, seu uso exclusivo nega a ancestralidade histórica dos indivíduos e confunde a compreensão dos fatores biológicos subjacentes à obesidade, seus traços relacionados a riscos metabólicos, e sua variação dentro e entre as populações (63).

À medida que populações continuam a cruzar entre si, a autoidentificação tende a se tornar menos o reflexo da verdadeira origem ancestral de um indivíduo. Divers et al. (148) descreveram essa tendência entre hispano-americanos do Estudo Multiétnico para

Aterosclerose (MESA), onde a ancestralidade genética não correspondia à auto-declaração hispânica em 30% de seus participantes autodeclarados hispânicos.

### 3.6 Associação entre os SNPs dos genes *MC4R*, *FTO*, *FAIM2*, *BDNF* e os marcadores de adiposidade

Os genótipos obtidos dos marcadores SNP foram: TT, CT, CC para rs17782313 (*MC4R*); TT, AT, AA para rs9939609 (*FTO*); GG, AG, AA para rs7138803 (*FAIM2*); e CC, CT, TT para rs4074134 (*BDNF*). Esses genótipos foram transformados em variáveis *dummy* para os testes de regressão linear.

Os alelos descritos como de maior risco associados à adiposidade e condições metabólicas são, em cada SNP: C, A, A e C para rs17782313 (*MC4R*), rs9939609 (*FTO*), rs7138803 (*FAIM2*) e rs4074134 (*BDNF*), respectivamente (149). Assim, genótipos heterozigóticos e homozigóticos para os alelos de risco foram analisados em referência ao genótipo homozigótico de menor risco nos testes de associação.

Genótipos homozigóticos com os alelos ancestrais estão presentes em mais indivíduos que genótipos heterozigóticos e homozigóticos com os alelos recentes, com exceção do rs9939609 (*FTO*), que apresenta seu genótipo heterozigótico em mais indivíduos (Tabela 8).

O tamanho amostral afeta diretamente a significância dos resultados em estudos de associação. Mesmo com resultados não estatisticamente significativos na amostra, pelos valores das médias dos marcadores de adiposidade para cada genótipo, observa-se que com exceção de indivíduos com os genótipos de risco do rs9939609 (*FTO*) e do rs7138803 (*FAIM2*) para os marcadores razão cintura-quadril e percentual de gordura corporal, respectivamente, indivíduos com os outros genótipos de risco apresentam médias maiores dos marcadores relacionados à obesidade. Isso denota, independente de significância estatística, algum peso do genótipo de risco na susceptibilidade a maiores valores de IMC, circunferência da cintura, razão cintura-quadril, percentual de gordura corporal e conseqüentemente, de adiposidade.

Tabela 8 - Médias, desvios padrão e amostragem dos quatro marcadores de adiposidade para cada genótipo dos quatro *loci*

Genótipo		IMC (kg/m <sup>2</sup> )	CC (cm)	RCQ	GORD C. (%)
	Freq.	Média / SD			
<b>TT_MC4R</b>	313	27,80 / 5,20	96,57 / 12,67	0,94 / 0,08	35,68 / 8,46
<b>CT_MC4R</b>	164	28,36 / 4,79	97,72 / 12,11	0,93 / 0,08	37,09 / 8,02
<b>CC_MC4R*</b>	24	<b>28,83 / 4,67</b>	<b>99,29 / 12,16</b>	<b>0,94 / 0,07</b>	<b>38,00 / 8,32</b>
<b>TT_FTO</b>	166	28,21 / 5,32	97,23 / 13,26	0,94 / 0,07	36,03 / 8,32
<b>AT_FTO</b>	246	27,71 / 4,87	96,72 / 11,77	0,93 / 0,08	36,10 / 8,46
<b>AA_FTO*</b>	89	<b>28,60 / 5,02</b>	<b>97,79 / 12,89</b>	<b>0,93 / 0,08</b>	<b>37,08 / 8,00</b>
<b>GG_FAIM2</b>	252	28,22 / 5,18	97,55 / 12,70	0,93 / 0,08	37,02 / 8,27
<b>AG_FAIM2</b>	211	27,71 / 4,78	96,17 / 12,14	0,93 / 0,07	35,35 / 8,44
<b>AA_FAIM2*</b>	38	<b>28,50 / 5,61</b>	<b>98,97 / 12,63</b>	<b>0,95 / 0,07</b>	<b>36,23 / 7,68</b>
<b>TT_BDNF</b>	59	27,34 / 4,78	95,71 / 11,87	0,93 / 0,07	35,28 / 9,38
<b>CT_BDNF</b>	152	27,35 / 4,57	95,65 / 11,76	0,93 / 0,08	35,58 / 8,39
<b>CC_BDNF*</b>	290	<b>28,53 / 5,30</b>	<b>98,11 / 12,87</b>	<b>0,94 / 0,07</b>	<b>36,81 / 8,04</b>

Legenda: \*: Genótipos de risco; IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da Cintura; RCQ: Razão Cintura-Quadril; GORD C.: Gordura Corporal; N: número de indivíduos, SD: Desvio Padrão.

Para comparar as frequências dos genótipos entre a amostra de estudo e as populações africana, europeia e ameríndia, buscou-se da fase 3 do Projeto *1000 genomes* as frequências nessas populações de referência (Tabela 9).

As frequências na população amostral dos genótipos de risco do rs17782313 (*MC4R*) e do rs9939609 (*FTO*) ficaram entre as populações de referência nativas e europeias. Esses genótipos têm sua maior frequência nas populações africanas. A frequência do genótipo de risco do rs7138803 (*FAIM2*) na população amostral também ficou entre as populações nativas e europeias. No entanto, para esse genótipo de risco, a maior frequência é encontrada em populações europeias, e a menor em populações africanas. Por fim, o genótipo de risco do rs4074134 (*BDNF*) foi menos frequente na população amostral do que nas populações de referência, onde as frequências estão similarmente distribuídas.

Tabela 9 - Frequências dos genótipos na amostra de estudo e nas populações de referência africana, europeia e ameríndia

<b>Genótipo</b>	<b>AFR</b>	<b>EUR</b>	<b>AME</b>	<b>População amostral</b>
<b>TT_MC4R</b>	0,513	0,581	0,761	0,624
<b>CT_MC4R</b>	0,419	0,360	0,210	0,328
<b>CC_MC4R*</b>	0,068	0,060	0,029	0,048
<b>TT_FTO</b>	0,256	0,372	0,548	0,332
<b>AT_FTO</b>	0,501	0,429	0,380	0,490
<b>AA_FTO*</b>	0,244	0,199	0,072	0,178
<b>GG_FAIM2</b>	0,750	0,427	0,545	0,502
<b>AG_FAIM2</b>	0,233	0,469	0,386	0,422
<b>AA_FAIM2*</b>	0,017	0,103	0,069	0,076
<b>TT_BDNF</b>	0,017	0,044	0,035	0,118
<b>CT_BDNF</b>	0,287	0,350	0,288	0,304
<b>CC_BDNF*</b>	0,696	0,606	0,677	0,578

Legenda: \*: Genótipos de risco.

Os índices de correlações obtidos após os testes apontam correlações fracas entre todos os genótipos e os traços relacionados à obesidade. Não foram detectadas associações estatisticamente significativas (Tabela 10). Na análise sem a inclusão de variáveis de correção, de acordo com o coeficiente de regressão não padronizado ( $\beta$ ), foi encontrada uma associação inversa estatisticamente significativa entre o genótipo AG do SNP rs7138803 (*FAIM2*) e o percentual de gordura corporal ( $\beta = -1,673$ ).

Uma nova análise foi realizada para controlar a variação da amostra em ancestralidade, idade, sexo e renda, a fim de evitar associações espúrias. Com os efeitos das variáveis de controle removidos, não foram detectadas associações estatisticamente significativas. A variável “genótipo AG” do SNP rs7138803 (*FAIM2*) foi removida do modelo de regressão com as variáveis de controle pelo software SPSS (Tabela 11).

Tabela 10 - Resultados de associação e correlação, assim como intervalos de confiança e valores de  $p$  para as análises de associação entre os genótipos e os marcadores de adiposidade

Genótipo	IMC (kg/m <sup>2</sup> ) n = 498	CC (cm) n = 501	RCQ n = 501	GORD C. (%) n = 498
	$\beta$ (IC 95%) / $r$ / $p$ -valor - sem variáveis de controle			
<b>TT_MC4R</b> Ref	-	-	-	-
<b>CT_MC4R</b>	0,536 (-0,424, 1,496) / 0,043 / 0,273	1,106 (-1,256, 3,468) / 0,034 / 0,358	-0,007 (-0,021, 0,008) / -0,043 / 0,363	1,405 (-0,169, 2,980) / 0,070 / 0,080
<b>CC_MC4R*</b>	1,013 (-1,090, 3,117) / 0,035 / 0,344	2,678 (-2,511, 7,868) / 0,039 / 0,311	0,003 (-0,028, 0,034) / 0,015 / 0,847	2,321 (-1,134, 5,775) / 0,047 / 0,187
<b>TT_FTO</b> Ref	-	-	-	-
<b>AT_FTO</b>	-0,542 (-1,542, 0,457) / -0,066 / 0,287	-0,587 (-3,048, 1,874) / -0,030 / 0,640	-0,005 (-0,020, 0,010) / -0,024 / 0,516	0,063 (-1,584, 1,710) / 0,018 / 0,940
<b>AA_FTO*</b>	0,354 (-0,956, 1,664) / 0,051 / 0,596	0,481 (-2,738, 3,700) / 0,025 / 0,769	-0,004 (-0,023, 0,016) / -0,004 / 0,704	1,039 (-1,110, 3,188) / 0,046 / 0,343
<b>GG_FAIM2</b> Ref	-	-	-	-
<b>AG_FAIM2</b>	-0,538 (-1,468, 0,392) / -0,056 / 0,256	-1,433 (-3,717, 0,852) / -0,064 / 0,218	-0,003 (-0,017, 0,010) / -0,035 / 0,640	-1,673 (-3,198, -0,147) / -0,093 / <b>0,032</b>
<b>AA_FAIM2*</b>	0,249 (-1,480, 1,978) / 0,026 / 0,777	1,371 (-2,890, 5,631) / 0,043 / 0,528	0,015 (-0,010, 0,041) / 0,059 / 0,244	-0,794 (-3,632, 2,044) / -0,001 / 0,583
<b>TT_BDNF</b> Ref	-	-	-	-
<b>CT_BDNF</b>	-0,118 (-1,625, 1,389) / -0,091 / 0,878	-0,299 (-4,023, 3,426) / -0,077 / 0,875	0,002 (-0,021, 0,024) / 0,040 / 0,886	0,261 (-2,230, 2,752) / 0,054 / 0,837
<b>CC_BDNF*</b>	1,068 (-0,335, 2,472) / 0,113 / 0,135	2,157 (-1,309, 5,623) / 0,094 / 0,222	0,010 (-0,011, 0,031) / 0,057 / 0,353	1,488 (-0,829, 3,805) / 0,077 / 0,208

	$\beta$ (IC 95%) / r / p-valor - com as variáveis de controle idade, gênero e renda; e as ancestralidades africana, europeia e nativa			
<b>TT_MC4R</b> Ref	-	-	-	-
<b>CT_MC4R</b>	0,530 (-0,435, 1,495) / 0,049 / 0,281	1,483 (-0,875, 3,841) / 0,056 / 0,217	0,001 (-0,012, 0,013) / 0,003 / 0,940	0,570 (-0,598, 1,738) / 0,043 / 0,338
<b>CC_MC4R*</b>	0,816 (-1,302, 2,934) / 0,034 / 0,449	2,807 (-2,385, 8,000) / 0,048 / 0,289	0,008 (-0,020, 0,036) / 0,026 / 0,571	0,809 (-1,759, 3,377) / 0,028 / 0,536
<b>TT_FTO</b> Ref	-	-	-	-
<b>AT_FTO</b>	-0,551 (-1,553, 0,451) / -0,049 / 0,280	-0,481 (-2,935, 1,973) / -0,017 / 0,700	-0,003 (-0,016, 0,010) / -0,019 / 0,678	0,113 (-1,103, 1,328) / 0,008 / 0,856
<b>AA_FTO*</b>	0,392 (-0,931, 1,714) / 0,026 / 0,561	0,963 (-2,269, 4,195) / 0,026 / 0,558	0,003 (-0,014, 0,020) / 0,016 / 0,724	0,809 (-0,789, 2,406) / 0,045 / 0,320
<b>GG_FAIM2</b> Ref	-	-	-	-
<b>AG_FAIM2</b>	Variável excluída do modelo de regressão linear			
<b>AA_FAIM2*</b>	0,254 (-1,492, 2,000) / 0,013 / 0,775	0,765 (-3,511, 5,042) / 0,016 / 0,725	0,003 (-0,019, 0,026) / 0,013 / 0,779	0,343 (-1,775, 2,461) / 0,014 / 0,750
<b>TT_BDNF</b> Ref	-	-	-	-
<b>CT_BDNF</b>	-0,145 (-1,659, 1,370) / -0,009 / 0,851	-0,270 (-3,994, 3,453) / -0,006 / 0,887	0,003 (-0,017, 0,022) / 0,012 / 0,792	0,287 (-1,551, 2,124) / 0,014 / 0,759
<b>CC_BDNF*</b>	1,018 (-0,400, 2,435) / 0,064 / 0,159	2,149 (-1,333, 5,630) / 0,055 / 0,226	0,009 (-0,010, 0,027) / 0,042 / 0,347	1,506 (-0,212, 3,224) / 0,078 / 0,086

Legenda: \*: Genótipos de risco; IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da Cintura; RCQ: Razão Cintura-Quadril; GORD C.: Gordura Corporal; IC: Intervalo de Confiança.

Tabela 11 - Resultados de associação e correlação, assim como valores de  $p$  para a análise de associação entre a variável removida e os marcadores de adiposidade

Genótipo	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	CC (cm)	RCQ	GORD C. (%)
	Beta in / r / $p$ -valor			
<b>AG_FAIM2</b>	-0,054 / -0,054 / 0,235	-0,080 / -0,079 / 0,078	-0,081 / -0,091 / 0,053	-0,014 / -0,019 / 0,673

Legenda: IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da Cintura; RCQ: Razão Cintura-Quadril; GORD C.: Gordura Corporal.

### 3.6.1 rs17782313 (MC4R)

O rs17782313 (*MC4R*) foi o primeiro locus no qual mutações associadas à obesidade humana hereditária dominante foram identificadas, e foi a causa genética mais investigada da obesidade humana, antes da era dos *Genome Wide Association Studies* (GWAS, em português, Estudos de Associação de Amplo Genoma).

Este polimorfismo foi associado ao aumento do IMC e da circunferência da cintura (150), resistência à insulina (151), diabetes mellitus tipo 2 e ingestão de lipídios (152). Além disso, a presença do alelo de risco (C) mostrou uma relação com a ingestão alimentar não controlada (153).

Anteriormente, o polimorfismo rs17782313 (*MC4R*) foi associado a variáveis de obesidade em populações asiáticas e europeias (20,154,155). No entanto, esses resultados não foram encontrados em uma coorte de africanos e asiáticos orientais (156,157).

Em uma meta-análise de 15 estudos de associação do genoma com o IMC, que envolveu 32.387 participantes e acompanhou seus principais efeitos em 14 coortes adicionais envolvendo 59.082 participantes, foi confirmada uma associação do rs17782313 (*MC4R*) com uma maior incidência (2 % a mais que o alelo ancestral de baixo risco) do alelo mutante em maiores valores de IMC (20).

Mais recentemente, Yu et al. (158) observaram em uma meta-análise que o gene mutante do rs17782313 (*MC4R*) é um fator de risco para obesidade. Eles não encontraram uma conexão significativa do genótipo heterozigoto com a obesidade.

Uma das explicações para que no presente estudo não se tenha achado associação estatisticamente significativa desse locus com marcadores relacionados à obesidade pode estar no fato de que ele está mais associado à obesidade na infância do que na idade adulta (159).



Hardy et al. (159) genotiparam variantes no gene *MC4R* (rs17782313) em 1.240 homens e 1.239 mulheres nascidos em 1946 na Grã-Bretanha, participantes da Pesquisa Nacional de Saúde e Desenvolvimento (*Medical Research Council*). O SNP mostrou associações mais fortes com a massa total do que com o IMC. Sua associação com a massa aumentou durante a infância e adolescência, atingiu o pico na idade de 20 anos, e enfraqueceu durante a idade adulta. Concluiu-se que as variantes genéticas no *MC4R* mostraram mudanças bifásicas semelhantes em suas associações com IMC e peso, respectivamente, fortalecendo durante a infância até a idade de 20 anos e enfraquecendo com o aumento da idade adulta.

O presente estudo não identificou associação estatisticamente significativa entre o SNP e as medidas relacionadas à obesidade em uma amostra de população brasileira. Da Fonseca et al. (160) observaram resultados semelhantes. Eles não observaram associação entre o polimorfismo e obesidade em uma coorte de 490 indivíduos do Brasil. Grant et al. (13) encontraram resultado semelhante, em que nenhuma associação foi observada entre o rs17782313 (*MC4R*) e obesidade em indivíduos afro-americanos. Esses achados sugerem que a influência desse polimorfismo no risco de obesidade pode ser dependente do grupo étnico, e de diferentes características ambientais, culturais e sociais.

### 3.6.2 rs9939609 (*FTO*)

As associações do gene *FTO* com a gordura corporal e características relacionadas à obesidade foram identificadas por diferentes investigações (118,161–163).

Estudos apontam que sua associação pode ser gênero-específica, como em um trabalho recente onde foram investigados portadores homens do alelo de risco do rs9939609 (*FTO*), que tinham massa corporal, IMC, RCQ e circunferências da cintura e quadril isoladas significativamente maiores do que os homens sem esse alelo de risco. Eles também foram mais frequentemente diagnosticados com obesidade com base no IMC e na circunferência da cintura. Essa influência não foi observada em mulheres. Os resultados apontam então uma associação masculino-específica entre o polimorfismo do *FTO* e características de obesidade (164).

Manco et al. (165), por sua vez, identificaram associação entre o rs9939609 (*FTO*) e obesidade ou índices de gordura corporal em adolescentes do gênero feminino, mas não do gênero masculino.

O papel das variantes do *FTO* sobre o risco de obesidade é consistente em estudos com indivíduos de ascendência europeia (161). No entanto, aparentemente, não está associado ao

risco de obesidade em populações afro-americanas, chinesas Han e nativas-oceânicas (162,166,167).

No presente estudo, não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre esse SNP e os parâmetros relacionados à obesidade, como sugerem outros trabalhos. Outros estudos analisaram a relação entre o polimorfismo rs9939609 (*FTO*) e a susceptibilidade à obesidade no Brasil. Reuter et al. (168) estudaram a associação entre esse polimorfismo e o risco de sobrepeso/obesidade em uma amostra de jovens do sul do Brasil. Eles observaram que o rs9939609 (*FTO*) estava associado ao IMC e à circunferência da cintura. Pereira et al. (169) realizaram um estudo semelhante com crianças. No entanto, eles não encontraram essa associação.

Ramos et al. (170) investigaram a contribuição desse polimorfismo no risco de obesidade mórbida. Eles analisaram 239 indivíduos de Minas Gerais, na região sudeste do Brasil. Seus resultados sugeriram que a presença do alelo de risco do rs9939609 (*FTO*) aumentou o risco de obesidade. Mais recentemente, Da Fonseca et al. (160,171) observaram que esse SNP desempenha um papel significativo na predisposição de maior massa corporal, IMC e obesidade grave em uma amostra da população brasileira. Os resultados conflitantes podem ser explicados por diferenças nas condições sociais e culturais dos indivíduos, como renda e hábitos alimentares.

### 3.6.3 rs7138803 (*FAIM2*)

A relação dos alelos de risco do rs7138803 (*FAIM2*) com a obesidade foi confirmada e identificada por Corella et al. (121), onde novas e consistentes associações com a frequência cardíaca, em particular em indivíduos com diabetes do tipo 2 foram encontradas.

O presente estudo é o primeiro em uma amostra populacional brasileira a investigar a associação do rs7138803 (*FAIM2*) com marcadores de adiposidade relacionados à obesidade. Embora não se tenha observado associação estatisticamente significativa nesta amostra populacional, autores sugerem que há associação desse polimorfismo com IMC, circunferência da cintura e acumulação de gordura, principalmente em populações europeias e asiáticas (120,172,173). Esses achados contrastantes provavelmente se devem a diferenças significativas nos componentes étnicos, ambientais, sociais e culturais ao longo dos continentes.

Recentemente, na população chinesa Han, Kang et al. (120) identificaram associações diretas com o aumento do IMC, pressão arterial diastólica e triglicérides. No entanto, na

mesma população Han, Li et al. (174) não detectaram nenhum efeito significativo do rs7138803 (*FAIM2*) na obesidade. Outro estudo mostrou que esse polimorfismo estava associado à regulação da adiposidade em indivíduos chineses Han e europeus (173).

Em europeus, a variante rs7138803 (*FAIM2*) parece contribuir para a variação na morfologia e composição corporal em espanhóis. No entanto, as variantes genéticas no gene *FTO*, que foram consideradas muito associadas à obesidade em populações com ancestralidade europeia, não desempenharam um papel importante na regulação da adiposidade entre a amostra espanhola estudada (172).

Thorleifsson et al. (112) descobriram que o rs7138803 (*FAIM2*) estava associado ao IMC e à obesidade com base em estudos de GWAS em indivíduos de ancestralidade europeia. Subsequentemente, um estudo replicado mostrou que esse SNP estava significativamente associado à obesidade na população chinesa (175).

#### 3.6.4 rs4074134 (*BDNF*)

Por meio de GWAS, sete SNPs localizados próximos ou dentro do *BDNF*, incluindo o rs4074134, tiveram associações significativas a maiores valores de IMC e massa total (112).

Até agora, poucos estudos investigaram o rs4074134 (*BDNF*), e a maioria deles foi em populações asiáticas. Han et al. (176) encontraram uma associação entre esse polimorfismo e a redução de IMC, circunferência da cintura, glicose, insulina e risco de diabetes tipo 2 na população chinesa Han. Liu et al. (177) Identificaram associação do rs4074134 (*BDNF*) com maiores valores de IMC, em uma população rural da China. Em uma população japonesa, Hotta et al. (156) observaram que esse polimorfismo, assim como SNPs nos genes *FAIM2* e *MC4R*, estavam marginalmente associados à susceptibilidade à obesidade. Estes autores sugerem que alguns SNPs identificados por GWAS como associados à obesidade em indivíduos de origem europeia também conferem susceptibilidade à obesidade em indivíduos japoneses.

No presente estudo, não foi observada associação entre o rs4074134 (*BDNF*) e as medidas relacionadas à obesidade. No Brasil, Da Fonseca et al. (160) não observaram associação entre o polimorfismo e obesidade. A disparidade dos resultados nas populações brasileira e asiática pode ser explicada por diferenças na composição genética das populações e nos critérios de seleção dos indivíduos. Como a maioria dos estudos que investigam a relação entre rs4074134 (*BDNF*) e obesidade foi realizada em populações asiáticas, ainda há muito a ser esclarecido em populações de outros continentes.

Vale ressaltar a importância de diversos aspectos ambientais, culturais e sociais em análises de associação entre fatores genéticos, doenças e características metabólicas. O tamanho amostral também reflete em grande impacto na interpretação e conclusão desses resultados de associação. Caso haja efeito significativo de associação na população, a capacidade de detecção desse efeito seria mais elevada em um maior tamanho amostral. Entretanto, mesmo com a limitação de amostragem reduzida, caso houvesse tais efeitos elevados da genética nos marcadores relacionados à obesidade nesta população, os resultados observados de correlação e associação se revelariam mais fortes.

Particularmente, o aumento da adiposidade e consequente obesidade é uma condição complexa em que muitos fatores estão envolvidos, singular ou simultaneamente. Outros polimorfismos genéticos, como também fatores antropológicos externos à genética como hábitos alimentares, exercício físico, dieta, renda e organização social apresentam uma grande interação no desencadeamento da obesidade. Sabe-se que fatores genéticos são responsáveis pela susceptibilidade, mas os fatores externos são primordiais para o desenvolvimento da condição. Faz-se importante também o crescente esforço para estudos de associação em populações de diferentes características populacionais, miscigenatórias e de ascendência biogeográfica, para se entender melhor como essas associações genéticas a condições de saúde são reveladas, de diferentes formas.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos durante o desenvolvimento desta dissertação permitiram alcançar as seguintes conclusões:

- A população estudada apresenta proporções de ancestralidade majoritariamente europeia, seguida de africana e por último ameríndia, estimadas através da análise pelos 46 AIM-InDels.
- Todos os genótipos descritos para os SNPs rs17782313-*MC4R* (T > C), rs9939609-*FTO* (T > A), rs7138803-*FAIM2* (G > A) e rs4074134-*BDNF* (C > T) foram detectados na população amostral.
- A população estudada apresenta desvio ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que indica subestruturação genética.
- Não se observaram associações estatisticamente significativas entre a ancestralidade e os marcadores de adiposidade.
- Nenhuma associação estatisticamente significativa foi observada entre os quatro *loci* genéticos descritos como associados à obesidade e os marcadores de adiposidade.
- Os valores de baixa correlação e associação obtidos podem ser explicados pelo fato de fatores genéticos serem responsáveis apenas pela susceptibilidade a um aumento na adiposidade e à obesidade e suas consequências, enquanto que o desenvolvimento se dá principalmente por fatores ambientais, sociais e culturais.

## REFERÊNCIAS

1. Wells JCK. The evolution of human fatness and susceptibility to obesity: An ethological approach. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 2006.
2. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9·1 million participants. *Lancet*. 2011;
3. World Health Organization. Obesity and overweight World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. April 1. 2020.
4. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;
5. Barsh GS, Farooqi IS, O'rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature*. 2000.
6. Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. *Nature Reviews Genetics*. 2005.
7. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, Meyre D. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clinical Science*. 2016.
8. Qasim A, Turcotte M, de Souza RJ, Samaan MC, Champredon D, Dushoff J, et al. On the origin of obesity: identifying the biological, environmental and cultural drivers of genetic risk among human populations. *Obesity Reviews*. 2018.
9. Sabin MA, Werther GA, Kiess W. Genetics of obesity and overgrowth syndromes. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2011.
10. Waalen J. The genetics of human obesity. *Translational Research*. 2014.
11. Yu YH. Making sense of metabolic obesity and hedonic obesity. *Journal of Diabetes*. 2017.
12. Grant SFA, Li M, Bradfield JP, Kim CE, Annaiah K, Santa E, et al. Association analysis of the FTO gene with obesity in children of Caucasian and African ancestry reveals a common tagging SNP. *PLoS One*. 2008;
13. Grant SFA, Bradfield JP, Zhang H, Wang K, Kim CE, Annaiah K, et al. Investigation of the locus near MC4R with childhood obesity in Americans of European and African ancestry. *Obesity*. 2009;

14. Ningombam SS, Chhungi V, Newmei MK, Rajkumari S, Devi NK, Mondal PR, et al. Differential distribution and association of FTO rs9939609 gene polymorphism with obesity: A cross-sectional study among two tribal populations of India with East-Asian ancestry. *Gene*. 2018;
15. Bamshad M, Wooding S, Salisbury BA, Stephens JC. Deconstructing the relationship between genetics and race. *Nature Reviews Genetics*. 2004.
16. Holsinger KE, Weir BS. Genetics in geographically structured populations: Defining, estimating and interpreting FST. *Nature Reviews Genetics*. 2009.
17. Cormack RM, Hartl DL, Clark AG. *Principles of Population Genetics*. Biometrics. 1990;
18. De Knijff P. Messages through bottlenecks: On the combined use of slow and fast evolving polymorphic markers on the human Y chromosome. *Am J Hum Genet*. 2000;
19. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJF, Li S, Lindgren CM, Heid IM, et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet*. 2009;
20. Loos RJF, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Hua Zhao J, Prokopenko I, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet*. 2008;
21. Loos RJF, Bouchard C. Obesity - Is it a genetic disorder? *Journal of Internal Medicine*. 2003.
22. Velázquez-Fernández D, Mercado-Celis G, Flores-Morales J, Clavellina-Gaytán D, Vidrio R, Vidrio E, et al. Analysis of Gene Candidate SNP and Ancestral Origin Associated to Obesity and Postoperative Weight Loss in a Cohort of Obese Patients Undergoing RYGB. *Obes Surg*. 2017;
23. da Fonseca ACP, Mastronardi C, Johar A, Arcos-Burgos M, Paz-Filho G. Genetics of non-syndromic childhood obesity and the use of high-throughput DNA sequencing technologies. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2017.
24. Huen K, Harley K, Beckman K, Eskenazi B, Holland N. Associations of PON1 and Genetic Ancestry with Obesity in Early Childhood. *PLoS One*. 2013;
25. Fernández JR, Pearson KE, Kell KP, Bohan Brown MM. Genetic admixture and obesity: Recent perspectives and future applications. *Hum Hered*. 2013;
26. Klimentidis YC, Arora A, Zhou J, Kittles R, Allison DB. The genetic contribution of West-African ancestry to protection against central obesity in African-American men but not women: Results from the ARIC and MESA studies. *Front Genet*. 2016;
27. Hu H, Huff CD, Yamamura Y, Wu X, Strom SS. The relationship between Native American Ancestry, body mass index and diabetes risk among Mexican-Americans. *PLoS One*. 2015;

28. Ministério da Saúde. Vigitel Brasil 2019. Vigitel Brasil 2019 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico : estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados . 2020.
29. Monteiro CA, Moura EC, Conde WL, Popkin BM. Socioeconomic status and obesity in adult populations of developing countries: A review. *Bulletin of the World Health Organization*. 2004.
30. McLaren L. Socioeconomic status and obesity. *Epidemiologic Reviews*. 2007.
31. Dinsa GD, Goryakin Y, Fumagalli E, Suhrcke M. Obesity and socioeconomic status in developing countries: A systematic review. *Obes Rev*. 2012;
32. Schmidt MI, Duncan BB, E Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: Burden and current challenges. *The Lancet*. 2011.
33. Bezerra IN, Souza A de M, Pereira RA, Sichieri R. Consumo de alimentos fora do domicílio no Brasil. *Rev Saude Publica*. 2013;
34. Pond CM. *The Fats of Life*. The Fats of Life. 1998.
35. Liu XY, Yang DB, Xu YC, Gronning MOL, Zhang F, Wang DH, et al. Photoperiod induced obesity in the Brandt's vole (*Lasiopodomys brandtii*): A model of "healthy obesity"? *DMM Dis Model Mech*. 2016;
36. Gerstein HC, Waltman L. Why don't pigs get diabetes? Explanations for variations in diabetes susceptibility in human populations living in a diabetogenic environment. *CMAJ*. 2006.
37. Whitfield J. Fat pigs ape obese humans. *Nature*. 2003;
38. Albins MA, Hixon MA. Worst case scenario: Potential long-term effects of invasive predatory lionfish (*Pterois volitans*) on Atlantic and Caribbean coral-reef communities. *Environ Biol Fishes*. 2013;
39. Egger G, Swinburn B. An "ecological" approach to the obesity pandemic. *British Medical Journal*. 1997.
40. Hill JO, Peters JC. Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science*. 1998.
41. Curioni CC, Lourenço PM. Long-term weight loss after diet and exercise: A systematic review. *International Journal of Obesity*. 2005.
42. Bahia L, Coutinho ESF, Barufaldi LA, De Azevedo Abreu G, Malhão TA, Ribeiro De Souza CP, et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: Cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2012;
43. Hu FB, Doria A, Li T, Meigs JB, Liu S, Memisoglu A, et al. Genetic Variation at the



- Adiponectin Locus and Risk of Type 2 Diabetes in Women. *Diabetes*. 2004;
44. Bogers RP, Bemelmans WJE, Hoogenveen RT, Boshuizen HC, Woodward M, Knekt P, et al. Association of overweight with increased risk of coronary heart disease partly independent of blood pressure and cholesterol levels: A meta-analysis of 21 cohort studies including more than 300 000 persons. *Arch Intern Med*. 2007;
  45. Jood K, Jern C, Wilhelmsen L, Rosengren A. Body mass index in mid-life is associated with a first stroke in men: A prospective population study over 28 years. *Stroke*. 2004;
  46. Clark K. Obesity and the risk of heart failure. *J Insur Med*. 2003;
  47. Ageno W, Becattini C, Brighton T, Selby R, Kamphuisen PW. Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism: A meta-analysis. *Circulation*. 2008;
  48. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet*. 2008;
  49. Onyike CU, Crum RM, Lee HB, Lyketsos CG, Eaton WW. Is Obesity Associated with Major Depression? Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*. 2003;
  50. Loef M, Walach H. Midlife obesity and dementia: Meta-analysis and adjusted forecast of dementia prevalence in the United States and China. *Obesity*. 2013;
  51. Park M, Song DY, Je Y, Lee JE. Body mass index and biliary tract disease: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Preventive Medicine*. 2014.
  52. Zhou ZY, Liu YK, Chen HL, Liu F. Body mass index and knee osteoarthritis risk: A dose-response meta-analysis. *Obesity*. 2014;
  53. Ovesen P, Rasmussen S, Kesmodel U. Effect of prepregnancy maternal overweight and obesity on pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 2011;
  54. Kalligeros M, Shehadeh F, Mylona EK, Benitez G, Beckwith CG, Chan PA, et al. Association of Obesity with Disease Severity Among Patients with Coronavirus Disease 2019. *Obesity*. 2020;
  55. Kass DA, Duggal P, Cingolani O. Obesity could shift severe COVID-19 disease to younger ages. *The Lancet*. 2020.
  56. Valera B, Sohani Z, Rana A, Poirier P, Anand SS. The Ethnoepidemiology of Obesity. *Canadian Journal of Cardiology*. 2015.
  57. Dhurandhar EJ, Keith SW. The aetiology of obesity beyond eating more and exercising less. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*. 2014.
  58. Cheng CY, Reich D, Coresh J, Boerwinkle E, Patterson N, Li M, et al. Admixture

- mapping of obesity-related traits in african americans: The atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Obesity*. 2010;
59. Risso DS, Giuliani C, Antinucci M, Morini G, Garagnani P, Tofanelli S, et al. A bio-cultural approach to the study of food choice: The contribution of taste genetics, population and culture. *Appetite*. 2017;
  60. Samet JM, Coultas DB, Howard CA, Skipper BJ, Hanis CL. Diabetes, gallbladder disease, obesity, and hypertension among hispanics in New Mexico. *Am J Epidemiol*. 1988;
  61. King H, Heywood P, Zimmet P, Alpers M, Collins V, Collins A, et al. Glucose tolerance in a highland population in Papua New Guinea. *Diabetes Res*. 1984;
  62. Chen G, Shriner D, Zhou J, Doumatey A, Huang H, Gerry NP, et al. Development of admixture mapping panels for African Americans from commercial high-density SNP arrays. *BMC Genomics*. 2010;
  63. Fernández JR, Shriver MD, Beasley TM, Rafla-Demetrious N, Parra E, Albu J, et al. Association of African genetic admixture with resting metabolic rate and obesity among women. *Obes Res*. 2003;
  64. Shaffer JR, Kammerer CM, Reich D, McDonald G, Patterson N, Goodpaster B, et al. Genetic markers for ancestry are correlated with body composition traits in older African Americans. *Osteoporos Int*. 2007;
  65. Cardel M, Higgins PB, Willig AL, Keita AD, Casazza K, Gower BA, et al. African genetic admixture is associated with body composition and fat distribution in a cross-sectional study of children. *Int J Obes*. 2011;
  66. Bonilla C, Shriver MD, Parra EJ, Jones A, Fernández JR. Ancestral proportions and their association with skin pigmentation and bone mineral density in Puerto Rican women from New York city. *Hum Genet*. 2004;
  67. Mao X, Bigham AW, Mei R, Gutierrez G, Weiss KM, Brutsaert TD, et al. A genomewide admixture mapping panel for hispanic/latino populations. *Am J Hum Genet*. 2007;
  68. Willig AL, Hunter GR, Casazza K, Heimburger DC, Beasley TM, Fernandez JR. Body fat and racial genetic admixture are associated with aerobic fitness levels in a multiethnic pediatric population. *Obesity*. 2011;
  69. Nassir R, Qi L, Kosoy R, Garcia L, Allison M, Ochs-Balcom HM, et al. Relationship between adiposity and admixture in African-American and Hispanic-American women. *Int J Obes*. 2012;
  70. Klimentidis YC, Miller GF, Shriver MD. The relationship between European genetic admixture and body composition among Hispanics and Native Americans. *Am J Hum Biol*. 2009;

71. Klimentidis YC, Divers J, Casazza K, Beasley TM, Allison DB, Fernandez JR. Ancestry-informative markers on chromosomes 2, 8 and 15 are associated with insulin-related traits in a racially diverse sample of children. *Hum Genomics*. 2011;
72. Gower BA, Fernández JR, Beasley TM, Shriver MD, Goran MI. Using genetic admixture to explain racial differences in insulin-related phenotypes. *Diabetes*. 2003;
73. Casazza K, Phadke RP, Fernandez JR, Watanabe RM, Goran MI, Gower BA. Obesity attenuates the contribution of African admixture to the insulin secretory profile in peripubertal children: A longitudinal analysis. *Obesity*. 2009;
74. Casazza K, Willig AL, Gower BA, Nagy TR, Hunter GR, Wallace S, et al. The Role of European Genetic Admixture in the Etiology of the Insulin Resistance Syndrome in Children: Are the Effects Mediated by Fat Accumulation? *J Pediatr*. 2010;
75. Martínez-Hernández A, Enríquez L, Moreno-Moreno MJ, Martí A. Genetics of obesity. *Public Health Nutrition*. 2007.
76. Bogardus C. Missing heritability and GWAS utility. *Obesity*. 2009.
77. Caulfield T, Fullerton SM, Ali-Khan SE, Arbour L, Burchard EG, Cooper RS, et al. Race and ancestry in biomedical research: Exploring the challenges. *Genome Medicine*. 2009.
78. Jobling MA, Tyler-Smith C. The human Y chromosome: An evolutionary marker comes of age. *Nature Reviews Genetics*. 2003.
79. Roberts DF, Cavalli-Sforza LL. The History and Geography of Human Genes. *J R Anthropol Inst*. 1996;
80. Campbell MC, Tishkoff SA. African genetic diversity: Implications for human demographic history, modern human origins, and complex disease mapping. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2008.
81. Jorde LB, Wooding SP. Genetic variation, classification and “race.” *Nature Genetics*. 2004.
82. Potter BA, Baichtal JF, Beaudoin AB, Fehren-Schmitz L, Haynes CV, Holliday VT, et al. Current evidence allows multiple models for the peopling of the Americas. *Science Advances*. 2018.
83. Kitchen A, Miyamoto MM, Mulligan CJ. A three-stage colonization model for the peopling of the Americas. *PLoS One*. 2008;
84. Fagundes NJR, Kanitz R, Eckert R, Valls ACS, Bogo MR, Salzano FM, et al. Mitochondrial Population Genomics Supports a Single Pre-Clovis Origin with a Coastal Route for the Peopling of the Americas. *Am J Hum Genet*. 2008;
85. Santos SE, Santos EJ, Guerreiro J. The amazonian microcosm. *Ciênc cult (São Paulo)*. 1999;

86. Azevedo MM. Diagnóstico da população indígena no Brasil. *Ciênc cult* (São Paulo). 2008;
87. Bandeira AM. O povoamento da América visto a partir dos sambaquis do Litoral Equatorial Amazônico do Brasil. FUMDHAMentos. 2008;
88. Goebel T, Waters MR, O'Rourke DH. The Late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science*. 2008.
89. IBGE. Brasil: 500 anos de povoamento. Censo Demográfico 2010. 2012;
90. Santos RV, Fry PH, Monteiro S, Maio MC, Rodrigues JC, Bastos-Rodrigues L, et al. Color, race, and genomic ancestry in Brazil: Dialogues between anthropology and genetics. *Curr Anthropol*. 2009;
91. Santos RV. South American Indians: a case study in evolution. *Cad Saude Publica*. 1989;
92. Saloum de Neves Manta F, Pereira R, Vianna R, Rodolfo Beuttenmüller de Araújo A, Leite Góes Gitaí D, Aparecida da Silva D, et al. Revisiting the Genetic Ancestry of Brazilians Using Autosomal AIM-Indels. *PLoS One*. 2013;
93. Pena SDJ, Santos FR, Tarazona-Santos E. Genetic admixture in Brazil. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2020;184(4):928–38.
94. Shriver MD, Smith MW, Jin L, Marcini A, Akey JM, Deka R, et al. Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers. *Am J Hum Genet*. 1997;
95. Phillips C, Salas A, Sánchez JJ, Fondevila M, Gómez-Tato A, Álvarez-Dios J, et al. Inferring ancestral origin using a single multiplex assay of ancestry-informative marker SNPs. *Forensic Sci Int Genet*. 2007;
96. Santos NPC, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-dos-Santos ÂKC, Pereira R, Gusmão L, Amorim A, et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. *Hum Mutat*. 2010;
97. Pereira R, Phillips C, Pinto N, Santos C, dos Santos SEB, Amorim A, et al. Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. *PLoS One*. 2012;
98. Butler JM, Decker AE, Kline MC, Vallone PM. Chromosomal Duplications Along the Y-Chromosome and Their Potential Impact on Y-STR Interpretation. *J Forensic Sci*. 2005;
99. Brookes AJ. The essence of SNPs. *Gene*. 1999.
100. Butler JM. Single Nucleotide Polymorphisms and Applications. In: *Advanced Topics in Forensic DNA Typing*. 2012.

101. Stoneking M. Single nucleotide polymorphisms. From the evolutionary past... *Nature*. 2001;
102. Collins FS, Brooks LD, Chakravarti A. A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res*. 1998;
103. Meyre D, Bouatia-Naji N, Tounian A, Samson C, Lecoeur C, Vatin V, et al. Variants of ENPP1 are associated with childhood and adult obesity and increase the risk of glucose intolerance and type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2005;
104. Farooqi IS. FTO and Obesity: The missing link. *Cell Metabolism*. 2011.
105. Boender AJ, van Gestel MA, Garnerv KM, Luijendijk MCM, Adan RAH. The Obesity-Associated gene NEGR1 regulates aspects of energy balance in rat hypothalamic areas. *Physiol Rep*. 2014;
106. Nizamuddin S, Govindaraj P, Saxena S, Kashyap M, Mishra A, Singh S, et al. A novel gene THSD7A is associated with obesity. *Int J Obes*. 2015;
107. Larder R, Sim MFM, Gulati P, Antrobus R, Tung YCL, Rimmington D, et al. Obesity-associated gene TMEM18 has a role in the central control of appetite and body weight regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;
108. Adan RAH, Tiesjema B, Hillebrand JJG, La Fleur SE, Kas MJH, De Krom M. The MC4 receptor and control of appetite. *British Journal of Pharmacology*. 2006.
109. Garfield AS, Li C, Madara JC, Shah BP, Webber E, Steger JS, et al. A neural basis for melanocortin-4 receptor-regulated appetite. *Nat Neurosci*. 2015;
110. Chambers JC, Elliott P, Zabaneh D, Zhang W, Li Y, Froguel P, et al. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat Genet*. 2008;
111. Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of obesity in humans. *Endocrine Reviews*. 2006.
112. Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, Helgadottir A, et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat Genet*. 2009;
113. Larsen LH, Echwald SM, Sørensen TIA, Andersen T, Wulff BS, Pedersen O. Prevalence of mutations and functional analyses of melanocortin 4 receptor variants identified among 750 men with juvenile-onset obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;
114. Church C, Moir L, McMurray F, Girard C, Banks GT, Teboul L, et al. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet*. 2010;
115. Gerken T, Girard CA, Tung YCL, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science* (80- ). 2007;

116. Fredriksson R, Hägglund M, Olszewski PK, Stephansson O, Jacobsson JA, Olszewska AM, et al. The obesity gene, FTO, is of ancient origin, up-regulated during food deprivation and expressed in neurons of feeding-related nuclei of the brain. *Endocrinology*. 2008;
117. Olszewski PK, Fredriksson R, Olszewska AM, Stephansson O, Alsiö J, Radomska KJ, et al. Hypothalamic FTO is associated with the regulation of energy intake not feeding reward. *BMC Neurosci*. 2009;
118. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* (80- ). 2007;
119. Wu L, Zhao X, Shen Y, Zhang MX, Yan Y, Hou D, et al. Promoter methylation of fas apoptotic inhibitory molecule 2 gene is associated with obesity and dyslipidaemia in Chinese children. *Diabetes Vasc Dis Res*. 2015;
120. Kang J, Guan RC, Zhao Y, Chen Y. Obesity-related loci in TMEM18, CDKAL1 and FAIM2 are associated with obesity and type 2 diabetes in Chinese Han patients. *BMC Med Genet*. 2020;
121. Corella D, Sorlí J V., González JI, Ortega C, Fitó M, Bulló M, et al. Novel association of the obesity risk-allele near Fas Apoptotic Inhibitory Molecule 2 (FAIM2) gene with heart rate and study of its effects on myocardial infarction in diabetic participants of the PREDIMED trial. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;
122. Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* (80- ). 1995;
123. Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci*. 2003;
124. Kaiser J. Genetic influences on disease remain hidden. *Science*. 2012.
125. Roy SM, Chesi A, Mentch F, Xiao R, Chiavacci R, Mitchell JA, et al. Body mass index (BMI) trajectories in infancy differ by population ancestry and may presage disparities in early childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;
126. André AL, Padez C, Rosado-Marques V, Griffiths PL, Varela-Silva MI. Growing up in Portugal: Cape verdean ancestry children exhibit low overweight and obesity compared with Portuguese in urban lisbon. *Journal of Biosocial Science*. 2017.
127. Halder I, Shriver M, Thomas M, Fernandez JR, Frudakis T. A panel of ancestry informative markers for estimating individual biogeographical ancestry and admixture from four continents: Utility and applications. *Hum Mutat*. 2008;
128. Faerstein E, Chor D, Lopes C de S, Werneck GL. Estudo Pró-Saúde: características gerais e aspectos metodológicos. *Rev Bras Epidemiol*. 2005;
129. World Medical Association. Declaration of Helsinki World Medical Association

- Declaration of Helsinki. Bull World Health Organ. 2013;
130. Weber JL, David D, Heil J, Fan Y, Zhao C, Marth G. Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 2002;
  131. Lohman TJ, Roache AF, Martorell R. Anthropometric Standardization Reference Manual. *Med Sci Sport Exerc.* 1992;
  132. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;
  133. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 2000;
  134. Jakobsson M, Rosenberg NA. CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics.* 2007;
  135. Alves-Silva J, da Silva Santos M, Guimarães PEM, Ferreira ACS, Bandelt HJ, Pena SDJ, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *Am J Hum Genet.* 2000;
  136. Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SDJ. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet.* 2001;
  137. Hünemeier T, Carvalho C, Marrero AR, Salzano FM, Pena SDJ, Bortolini MC. Niger-Congo speaking populations and the formation of the Brazilian gene pool: MtDNA and Y-chromosome data. *Am J Phys Anthropol.* 2007;
  138. de Souza AM, Resende SS, de Sousa TN, de Brito CFA. A systematic scoping review of the genetic ancestry of the Brazilian population. *Genetics and Molecular Biology.* 2019.
  139. Manta FSN, Pereira R, Caiafa A, Silva DA, Gusmão L, Carvalho EF. Analysis of genetic ancestry in the admixed Brazilian population from Rio de Janeiro using 46 autosomal ancestry-informative indel markers. *Ann Hum Biol.* 2013;
  140. da Rocha TF, Hasselmann MH, Chaves Curioni C, Bezerra FF, Faerstein E. Alcohol consumption is associated with DXA measurement of adiposity: the Pró-Saúde Study, Brazil. *Eur J Nutr.* 2017;
  141. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Heal Organ - Tech Rep Ser. 2000;
  142. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. In: *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2004.
  143. WHO. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation. World Heal Organ. 2008;
  144. Goonesekera SD, Fang SC, Piccolo RS, Florez JC, McKinlay JB. Biogeographic

- ancestry is associated with higher total body adiposity among African-American Females: The Boston Area Community Health Survey. *PLoS One*. 2015;
145. Tang H, Jorgenson E, Gadde M, Kardina SLR, Rao DC, Zhu X, et al. Racial admixture and its impact on BMI and blood pressure in African and Mexican Americans. *Hum Genet*. 2006;
  146. Lai CQ, Tucker KL, Choudhry S, Parnell LD, Mattei J, García-Bailo B, et al. Population admixture associated with disease prevalence in the Boston Puerto Rican health study. *Hum Genet*. 2009;
  147. Lins TC, Pires AS, Paula RS, Moraes CF, Vieira RG, Vianna LG, et al. Association of serum lipid components and obesity with genetic ancestry in an admixed population of elderly women. *Genet Mol Biol*. 2012;
  148. Divers J, Redden DT, Rice KM, Vaughan LK, Padilla MA, Allison DB, et al. Comparing self-reported ethnicity to genetic background measures in the context of the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *BMC Genet*. 2011;
  149. Howe KL, Achuthan P, Allen J, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Ridwan Amode M, et al. Ensembl 2021. *Nucleic Acids Res*. 2021;
  150. Loos RJF. The genetic epidemiology of melanocortin 4 receptor variants. *European Journal of Pharmacology*. 2011.
  151. Tschritter O, Haupt A, Preissl H, Ketterer C, Hennige AM, Sartorius T, et al. An obesity risk SNP (rs17782313) near the MC4R gene is associated with cerebrocortical insulin resistance in humans. *J Obes*. 2011;
  152. Khalilitehrani A, Qorbani M, Hosseini S, Pishva H. The association of MC4R rs17782313 polymorphism with dietary intake in Iranian adults. *Gene*. 2015;
  153. Vega JA, Salazar G, Isabel Hodgson M, Cataldo LR, Valladares M, Obregón AM, et al. Melanocortin-4 Receptor Gene Variation Is Associated with Eating Behavior in Chilean Adults. *Ann Nutr Metab*. 2016;
  154. Xi B, Chandak GR, Shen Y, Wang Q, Zhou D. Association between Common Polymorphism near the MC4R Gene and Obesity Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2012;
  155. Srivastava A, Mittal B, Prakash J, Srivastava P, Srivastava N. Analysis of MC4R rs17782313, POMC rs1042571, APOE-Hha1 and AGRP rs3412352 genetic variants with susceptibility to obesity risk in North Indians. *Ann Hum Biol*. 2016;
  156. Hotta K, Nakamura M, Nakamura T, Matsuo T, Nakata Y, Kamohara S, et al. Association between obesity and polymorphisms in SEC16B, TMEM18, GNPDA2, BDNF, FAIM2 and MC4R in a Japanese population. *J Hum Genet*. 2009;
  157. Hester JM, Wing MR, Li J, Palmer ND, Xu J, Hicks PJ, et al. Implication of European-derived adiposity loci in African Americans. *Int J Obes*. 2012;



158. Yu K, Li L, Zhang L, Guo L, Wang C. Association between MC4R rs17782313 genotype and obesity: A meta-analysis. *Gene*. 2020.
159. Hardy R, Wills AK, Wong A, Elks CE, Wareham NJ, Loos RJF, et al. Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size. *Hum Mol Genet*. 2009;
160. da Fonseca ACP, Abreu GM, Zembrzuski VM, Campos Junior M, Carneiro JRI, Neto JFN, et al. The association of the fat mass and obesity-associated gene (FTO) rs9939609 polymorphism and the severe obesity in a Brazilian population. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2019;
161. Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Körner A, Jacobson P, et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet*. 2007;
162. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, Albai G, Strait J, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet*. 2007;
163. Shabana, Hasnain S. Effect of the common fat mass and obesity associated gene variants on obesity in Pakistani population: A case-control study. *Biomed Res Int*. 2015;
164. Zdrojowy-Wełna A, Bednarek-Tupikowska G, Zatońska K, Kolačkov K, Jokieli-Rokita A, Bolanowski M. The association between FTO gene polymorphism rs9939609 and obesity is sex-specific in the population of PURE study in Poland. *Adv Clin Exp Med*. 2020;
165. Manco L, Pinho S, Albuquerque D, Machado-Rodrigues AM, Padez C. Physical activity and the association between the FTO rs9939609 polymorphism and obesity in Portuguese children aged 3 to 11 years. *Am J Hum Biol*. 2019;
166. Ohashi J, Naka I, Kimura R, Natsuhara K, Yamauchi T, Furusawa T, et al. FTO polymorphisms in oceanic populations. *J Hum Genet*. 2007;
167. Li H, Wu Y, Loos RJF, Hu FB, Liu Y, Wang J, et al. Variants in the fat mass- and obesity-associated (FTO) gene are not associated with obesity in a Chinese Han population. *Diabetes*. 2008;
168. Reuter CP, Rosane De Moura Valim A, Gaya AR, Borges TS, Klinger EI, Possuelo LG, et al. FTO polymorphism, cardiorespiratory fitness, and obesity in Brazilian youth. *Am J Hum Biol*. 2016;
169. Pereira P de A, Alvim-Soares AM, Sandrim VC, Lanna CMM, Souza-Costa DC, Belo V de A, et al. Lack of association between genetic polymorphism of FTO, AKT1 and AKTIP in childhood overweight and obesity. *J Pediatr (Versão em Port)*. 2016;
170. Ramos A V., Bastos-Rodrigues L, Resende BA, Friedman E, Campanha-Versiani L, Miranda DM, et al. The contribution of FTO and UCP-1 SNPs to extreme obesity, diabetes and cardiovascular risk in Brazilian individuals. *BMC Med Genet*. 2012;

171. da Fonseca ACP, Marchesini B, Zembrzuski VM, Voigt DD, Ramos VG, Carneiro JRI, et al. Genetic variants in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene confer risk for extreme obesity and modulate adiposity in a Brazilian population. *Genet Mol Biol.* 2020;
172. Poveda A, Ibáñez ME, Rebato E. Common variants in BDNF, FAIM2, FTO, MC4R, NEGR1, and SH2B1 show association with obesity-related variables in Spanish Roma population. *Am J Hum Biol.* 2014;
173. Ng MCY, Tam CHT, So WY, Ho JSK, Chan AW, Lee HM, et al. Implication of genetic variants near NEGR1, SEC16B, TMEM18, ETV5/DGKG, GNPDA2, LIN7C/BDNF, MTCH2, BCDIN3D/FAIM2, SH2B1, FTO, MC4R, and KCTD15 with obesity and type 2 diabetes in 7705 Chinese. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;
174. Li C, Qiu X, Yang N, Gao J, Rong Y, Xiong C, et al. Common rs7138803 variant of FAIM2 and obesity in Han Chinese. *BMC Cardiovasc Disord.* 2013;
175. Wu L, Xi B, Zhang M, Shen Y, Zhao X, Cheng H, et al. Associations of six single nucleotide polymorphisms in obesity-related genes with BMI and risk of obesity in Chinese children. *Diabetes.* 2010;
176. Han X, Luo Y, Zhang X, Lv C, Sun X, Zhang X, et al. Rs4074134 Near BDNF Gene Is Associated with Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Han Population Independently of Body Mass Index. *PLoS One.* 2013;
177. Liu W, Han X, Zhou X, Zhang S, Cai X, Zhang L, et al. Brain derived neurotrophic factor in newly diagnosed diabetes and prediabetes. *Mol Cell Endocrinol.* 2016;