

OBESIDADE E GENÉTICA

OBESITY AND GENETICS

Paulo Roberto Ferrari Mosca¹, Patrícia Pelufo Silveira^{1,2},
Isabel Cristina Ribas Werlang², Marcelo Zubaran Goldani^{1,2}

RESUMO

Revista HCPA. 2012;32(3):318-331

¹ Departamento de Pediatria e Puericultura, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

² Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O artigo revisa as metodologias de abordagem clínica e de pesquisa sobre obesidade, os estudos sobre herança da obesidade, as formas mendelianas de obesidade não sindrômica, as formas poligênicas da obesidade comum e as variações genômicas estruturais na obesidade.

Palavras-chave: obesidade; genética

ABSTRACT

The article reviews the methodological approaches and clinical research on obesity, the studies about inheritance of obesity, Mendelian forms of nonsyndromic obesity, poligenic forms of common obesity and the structural genomic variations in obesity.

Keywords: obesity; genetics

Contato:

Paulo Roberto Ferrari Mosca
moscaprf@terra.com.br
Porto Alegre, RS, Brasil

Este é um artigo de revisão que trata da genética da obesidade onde serão abordadas as metodologias de medidas para obesidade utilizadas na clínica e na pesquisa, as formas de herança da obesidade, incluindo as formas mendelianas e poligênicas, bem como as variações genômicas estruturais que estão associadas com o desenvolvimento da obesidade.

Metodologias de abordagem clínica e para pesquisa científica

A obesidade é caracterizada por um excesso de tecido adiposo. A medida clínica mais utilizada para caracterizá-la é o índice de massa corporal (IMC, peso em kg dividido pelo quadrado da altura em metro), com escalas por idade; mas este índice não distingue massa gorda da massa magra (1). Outro método é o dual energy x-ray absorptiometry (DXA scan), que mede a massa e a porcentagem de gordura corporal (massa de gordura dividido por massa de gordura mais massa

seca mais conteúdo mineral ósseo), assim como a imagem de ressonância magnética (MRI). Existem, ainda, medidas da circunferência abdominal, de dobras cutâneas e a razão cintura/quadril, sendo que para cada indicador existem escalas específicas.

Em crianças, o padrão ouro para medir a composição corporal é o modelo dos quatro componentes para quantificação de gordura, água mineral e proteína (2) e MRI para quantificação da gordura. Os métodos de referência incluem DXA, a diluição de isótopos e os pletismógrafo de deslocamento de ar (1). Os métodos preditivos incluem a análise de impedância bioelétrica (bioelectrical impedance analysis - BIA), mais comumente utilizado em pesquisa, e antropometria comum como medida de espessura da pele e do corpo – os quais foram usados com sucesso em crianças (1). Dentre as técnicas de referência, as que requerem a cooperação do indivíduo são inviáveis para uso na tenra idade e não há consenso sobre o uso de DXA

para avaliação rotineira da composição corporal durante as sensíveis janelas do desenvolvimento, mesmo sendo baixos os níveis de irradiação. A técnica de MRI vem sendo utilizada com sucesso em recém-nascidos, entretanto requer o acesso a centros especializados (3). A análise de impedância bioelétrica não é recomendada para crianças pequenas, pois assume que os músculos estejam em estado relaxado, evento difícil de ocorrer. Na predição desta técnica, há um erro de estimação, provendo dados imprecisos, sendo esperado o desenvolvimento de uma melhor qualidade para a técnica. Por isso, a antropometria ainda permanece como a abordagem mais utilizada, tendo sucesso na diferenciação da variabilidade dos índices de tecido não gorduroso, mesmo no lactente falso-magro (thin fat baby) (4).

A diluição de isótopos que seria útil para estudos de longo prazo, envolve o método de diluição do pool de água corporal com um dos isótopos da água, $2\text{H}_2\text{O}$ ou H_2^{18}O . Cada um dos isótopos é dado para o indivíduo beber e são coletadas amostras de urina ou saliva após 4 a 5 horas. Após, então, é medida a mudança na concentração do isótopo neste fluido corporal pela fórmula quantidade/volume = mudança na concentração do isótopo. Esta técnica foi usada com sucesso em crianças de 6 meses de idade (5), mas há dificuldades para uso em torno do nascimento, pois o recém-nascido produz um volume pequeno de urina e a obtenção de amostra de saliva é difícil. Outra limitação é que a água corporal total deve ser convertida em massa sem gordura, utilizando um valor assumido para a hidratação do tecido sem gordura. Além disso, a proporção das doses é decorrente do extravasamento do isótopo e esta análise usa espectrometria ou espectrofotometria de massa, método com alto custo e que necessita tempo.

Algumas dessas limitações parecem estar sendo vencidas pelo desenvolvimento de pletismógrafo de deslocamento de ar (air displacement plethysmography - Peapod). Esta técnica usa o Princípio de Arquimedes, calculando a proporção de gordura no peso corporal através da medida da densidade corporal, assumindo uma densidade constante da gordura e do tecido não gorduroso. Esse método é de fácil utilização em crianças abaixo de 8 kg, sendo viável para uso epidemiológico nos primeiros 4 a 6 meses de vida, sendo robusto mesmo para níveis modificáveis de atividade da criança (6).

Os métodos da epidemiologia genética para a descoberta de genes de traços complexos, como a obesidade, podem ser divididos em duas classes: os com abordagem livre de hipótese (*genome-wide linkage*

e *genome-wide association*) e os gerados por hipótese (gene candidato e rota metabólica). A abordagem livre de hipótese não envolve nenhuma hipótese biológica sobre o traço em questão. A maioria das análises abrange o escaneamento de 300 a 400 marcadores, tendo densidade suficiente para encontrar um sinal de ligação, apesar de scans com densidades maiores poderem apresentar maior poder. A análise tipo *genome-wide linkage* pode utilizar um 10-centimorgan (ou um denso 2-centimorgan) marcador de densidade com 400 a 2000 marcadores microssatélites que podem cobrir o genoma humano e identificar amplos intervalos de várias megabases com milhares de genes suscetíveis para a doença de interesse. Este método é capaz de identificar genes de doenças tipo desordens monogênicas, porém, quando aplicado a doenças complexas comuns, a análise de ligação possui pouco poder e o sucesso é limitado. Em adição, os requerimentos de alto custo e de dados baseados em famílias restringem o método na prática (7).

Os recentes avanços no projeto International *HapMap* tornaram populares os estudos da associação *genome-wide* de doenças complexas, como a obesidade. Esses estudos são mais poderosos devido à sua resolução e habilidade em estreitar, mais precisamente, as regiões genômicas alvo e detectar pequenos efeitos genéticos. O número de variantes genotipadas pode ser dramaticamente reduzido, levando em conta os desequilíbrios das ligações entre as variantes, capitalizando na realização de que marcadores genéticos comuns podem ser herdados juntos como “blocos” devido ao desequilíbrio de ligação (de modo grosseiro, a interação entre dois genes pode afetar a frequência de genótipos em alguns loci e, quando dois genes se desviam do equilíbrio esperado dos dois loci, eles são ditos em desequilíbrio de ligação) (8,9). O desenvolvimento de um conjunto baseado em desequilíbrio de ligações de polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphisms* - *SNPs*) pode maximizar a quantidade de variantes (mais de 14 milhões) capturadas por SNP para os 300.000 SNPs da Illumina Human-Hap300 BeadChip® ou para os 500.000 SNPs da Illumina Human-Hap500 BeadChip®. Um conjunto de SNPs que ignora padrões de desequilíbrio de ligação pode ser selecionado para distribuição aproximadamente randômica dentro do genoma viável por meio de arranjos, como na Affymetrix® com 111.000 e 500.000 conjuntos de arranjos (10,11).

A combinação destes dois métodos consiste num conjunto de SNP “randômico” aumentado por um conjunto cuidadosamente escolhido. É possível aqui escolher a plataforma balanceando eficiência,

redundância e completude em relação aos diferentes painéis de marcadores e populações estudadas (12).

Já a abordagem gerada por hipótese usa uma hipótese a priori, no qual um polimorfismo genético num gene-candidato ou numa rota metabólica são variantes causais ou estão em forte desequilíbrio de ligação com uma variante causal para um particular fenótipo sob interesse. Esta abordagem é uma estratégia eficiente para identificar variantes genéticas com efeitos pequenos que subjazem a susceptibilidade para doenças comuns, incluindo a obesidade. A seleção dos genes ou vias metabólicas candidatos deve considerar a relevância do candidato para a patogênese da doença em questão e os efeitos funcionais de um polimorfismo particular (13).

A análise de um gene-candidato é um teste indireto de associação para examinar a relação entre um mapa denso de SNPs e a doença, enquanto que a análise de SNP candidato é um teste direto de associação entre variantes funcionais e o risco de doença. A vantagem da associação indireta é que ela não requer determinação anterior de qual SNP será funcionalmente importante; sua desvantagem é o grande número de SNPs a serem genotipadas (13). Uma combinação de SNPs funcionalmente importantes e uma coleção de SNPs-alvo cobrindo todo o gene-candidato foram utilizadas em estudos de associação de gene-candidato (13). Variações genéticas em diversos genes-candidatos com as mesmas rotas metabólicas podem ser examinadas e suas interações testadas por meio da análise destas vias. É também possível refinar mapeamentos em picos de ligações significativas por análise de associação com o conhecimento de genes-candidatos que residem nestas regiões e estão envolvidos em rotas metabólicas para o desenvolvimento da doença em questão. Uma das fraquezas da análise do gene-candidato é que ela depende de uma hipótese a priori sobre o mecanismo da doença, tal que a descoberta das novas variantes genéticas ou novos genes é impedido pelo desconhecimento de vias. Além disso, a maioria dos estudos de análise para gene-candidato ou análise de ligação de casos versus controles é afetada por falta de poder em pequenas coortes, heterogeneidade das amostras, pobre fenotipagem e alto custo; isto acarreta que poucas regiões de ligação são replicadas (14,15).

Herança da obesidade

Os estudos com gêmeos, indivíduos adotados e famílias estabelecem que a obesidade é bastante herdável e um risco individual de obesidade é 2,5 a 4 vezes maior se um dos pais é obeso e 10 vezes maior se ambos os pais são obesos, comparados com pais de peso

normal (16). O risco familiar para obesidade (a razão de risco para obesidade para um indivíduo se um parente de primeiro grau é obeso comparado com indivíduos numa população que possui só parentes de primeiro grau com peso normal) varia de 1,5 a 5 dependendo da severidade da obesidade (17). A herança estimada varia de 16 a 85% para o IMC, de 37 a 81% para a circunferência da cintura, de 6 para 30% para a razão cintura/quadril e de 35 a 63% para a porcentagem de gordura corporal (18-30).

Estudos longitudinais demonstram que a herança estimada tende a aumentar da infância à pré-adolescência e desta para a adolescência, espelhando a crescente exposição a ambientes obesogênicos que tendem a atingir indivíduos com propensão genética. (31,32). Da mesma forma, mudanças longitudinais do IMC da adolescência a adulto jovem constituem um traço herdável e fatores genéticos que modulam níveis de IMC são só parcialmente explicativos daquelas mudanças modulatórias de IMC e das mudanças de IMC (33). Além disso, a herança da obesidade é um traço binário, assim como para o IMC, em todos os ordenamentos da população envolvida em todos os iguais com o mesmo conjunto de genes: numa amostra de dados sobre peso e altura numa ampla coorte inglesa de gêmeos, foram usadas técnicas para estimar as contribuições gênicas e ambientais para IMC, sendo encontrado que genes que influenciam a obesidade também influenciam IMC numa distribuição normal. Influências similares que afetam o IMC na clínica também possuem uma distribuição normal. Daí o conhecimento de que a obesidade é influenciada pelos mesmos fatores genéticos e ambientais que afetam o peso em todos os níveis possuem implicações para a investigação dos mecanismos para ganhar peso (34).

Entretanto, níveis herdáveis de IMC ou obesidade podem ser modificados por exposições específicas ao meio: um alto nível de atividade física, por exemplo, pode reduzir substancialmente a influência dos fatores genéticos sobre o IMC em adultos jovens e em adultos velhos (35,36). Uma revisão sistemática sobre gêmeos e adotados mostra que fatores genéticos parecem ter um efeito mais forte do que os fatores ambientais na evolução do IMC, em crianças até os 18 anos. Além disso, verificou-se que, se os fatores ambientais afetam moderadamente a variação de IMC na infância, seus efeitos desaparecem a partir dos 13 anos (37). Esse fato sugere que os pais podem influenciar a evolução do IMC de suas crianças durante a primeira década de vida, mas a curva de IMC tende a tomar sua evolução programada quando adolescentes são menos dependentes de seus parentes para comer e locomover-se.

A predominância da influência genética sobre a evolução do IMC persiste até a fase adulta: num estudo, a correlação intrapares dos valores de IMC aos 21 anos foi similar em gêmeos idênticos criados juntos ou num meio diferente, e foi 2,5 a 5 vezes maior em gêmeos monozigóticos do que em gêmeos dizigóticos pares (38). Em outro estudo de coorte longitudinal, uma forte correlação foi encontrada entre IMC de parentes e o IMC de gerações em crianças de 11 anos e adultos de 44-45 anos; estas associações não foram afetadas por ajuste para vários fatores de estilo de vida (39).

Em síntese, a evolução do IMC é fortemente influenciada pela base genética de cada indivíduo por várias décadas. Entretanto, a programação da curva do IMC em crianças não significa que sua evolução para a obesidade seja obrigatória, pois a restrição dietética e o aumento de atividade física podem conter ou limitar o ganho de peso programado. As maiores mudanças sociais que acompanharam a transição para um meio obesogênico não tiveram um maior impacto na predisposição genética para a obesidade, pois os valores de herança para IMC na infância permaneceram altos ($h^2 = 0,7$) mesmo num meio obesogênico e alguns dos mesmos genes parecem estar envolvidos em estabelecer suscetibilidade genética para obesidade tanto no período pré, como no pós-obesidade (40,41). As heranças estimadas para traços ligados à obesidade são consistentes entre nigerianos, jamaicanos e negros norte-americanos, apesar das contrastantes condições ambientais e diferenças de prevalência de obesidade: 5% na Nigéria, 23% na Jamaica e 39% nos Estados Unidos (42).

Além do IMC, existem estudos sobre herança para obesidade relacionada a endofenótipos, mostrando uma forte influência genética para traços intermediários, tais como porcentagem de gordura corporal, circunferência abdominal, conduta alimentar, nível de atividade física e gasto energético (43-47).

Formas mendelianas de obesidade não sindrômica

As formas conhecidas de obesidade monogênica em humanos são raras e severas, começando na infância, onde o gene tem alta penetrância. Estas formas são constituídas por mutações em oito genes envolvidos na diferenciação neuronal do núcleo paraventricular e na rede leptina/melanocortina. Os oito genes são os que codificam a leptina (LEP) e seu receptor (LEPR), a proôpiomelanocortina (POMC) e seu receptor (MC4R), a pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 1 (PSC1), o homólogo I do gene mind de *Drosófila* (SIM 1), o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e

seu receptor (NTRK2) (48,49). Peptídeos ligados a esses genes fazem parte das redes que geram o peptídeo anoréxico alfa-MSH (hormônio alfa-estimulador de melanócitos), que exerce seu efeito por intermédio da ligação aos seus receptores melanocortina 3 e 4 (MC3R e MC4R).

A completa inativação dos genes LEP, LEPR, POMC, PCSK1 e MC4R invariavelmente resulta em severa hiperfagia e uma forma totalmente penetrante de obesidade extrema, de início precoce, em humanos. Todavia, os traços fenotípicos adicionais associados com estas formas recessivas de obesidade são mais específicos. Assim, os indivíduos com deficiência congênita de LEPR ou com deficiência de leptina apresentam alterações imunológicas e frequentes infecções respiratórias com altos índices de morte precoce. Além disso, há também puberdade retardada pelo hipogonadismo hipogonadotrópico e hipotireoidismo (50,51). Em geral, os pacientes com deficiência congênita do LEPR possuem uma forma menos severa do que pacientes que apresentam formas homozigóticas de deficiência de leptina, sendo que o hipotireoidismo é menos comum (52). As deficiências parciais de LEP ou LEPR estão associadas com uma alta porcentagem de massa corporal gordurosa (52).

Indivíduos com deficiência completa de POMC mostram precocemente hipoglicemia secundária à deficiência de ACTH e desenvolvem hipoglicemia, icterícia e morte neonatal, com severa colestase. Indivíduos de origem europeia com deficiência de POMC mostram pele pálida e cabelo vermelho, mas os com deficiência de POMC de outras origens étnicas podem ter cabelo de cor normal (53,54). Pacientes com deficiência completa de PCSK1 mostram hipoglicemia reativa e severa diarreia pelo papel da enzima prohormone convertase 1/3 (PC1/3) nas células enteroendócrinas (55,56). Indivíduos heterozigóticos com deficiência da função de PCSK1 não são clinicamente afetados (52), mas mutações heterozigóticas que causam deficiência parcial da PC1/3 apresentam um risco 8,7 vezes maior de desenvolver obesidade em relação a indivíduos que não portam essas mutações (57).

Indivíduos com deficiência completa de MC4R mostram um aumento de massa magra, densidade mineral óssea e altura (58). Mutações no gene MC4R têm implicações funcionais na proteína resultando em uma variedade de alterações como: expressão anormal de MC4R na membrana, dificuldade na resposta de agonista para saciedade, alterações na atividade basal tônica do receptor, e distúrbio no transporte intracelular de proteínas (p. ex., BDNF) pela retenção citosólica, esta última correspondendo à forma mais comum

das mutações de MC4R (59). Já as variantes genéticas da MC3R mais comuns são associadas à obesidade pediátrica devido a hiperfagia, porém não há redução do gasto energético. Outras mutações raras de MC3R são associadas à obesidade severa em crianças (60-62). Novas pesquisas sobre obesidade infantil ligada a mutações no MC4R e talvez no MC3R, poderão mostrar semelhanças a formas comuns de obesidade de início na infância e talvez também apontar para analogias entre formas de obesidade monogênica recessiva com penetrância completa e formas poligênicas de obesidade comum.

Mais recentemente, foi encontrado que mutações em três genes envolvidos no desenvolvimento neural subjazem a formas raras de obesidade monogênica: o homólogo I do gene *mind* de *Drosófila* (SIM1), o receptor neutrófico da tirosina quinase tipo 2 (NTRK2, ou TrkB) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Estes genes estão envolvidos no funcionamento do hipotálamo, sendo que alterações na sua sequência de nucleotídeos causam hiperfagia. As mutações do gene BDNF não causam somente obesidade monogênica, mas são frequentes, numa proporção não negligenciável, em casos de obesidade comum (63-65).

O estudo destas formas recessivas de obesidade extrema monogênica foi útil no delineamento do papel de genes da rede leptina-melanocortina na fisiologia humana, porém só explica uma pequena porcentagem de obesidade na população.

No caso das deficiências genéticas parciais, as mutações de codificação deletéria com heterozigotia em MC4R ou POMC são associadas com uma forma não totalmente penetrante de obesidade, na qual a deficiência parcial de LEP ou de LEPR é associada com alta porcentagem de massa corporal gordurosa. Já os heterozigóticos com deficiência de função de PCSK1 não são clinicamente afetados (52,66-69). A deficiência de MC4R é uma causa comum de obesidade monogênica, havendo uma frequência de 0,07% de perda de função por mutação na população em geral; a penetrância para heterozigóticos é de 60%, sendo 100% para homozigóticos (66,70).

A haplo-insuficiência de BDNF, TrkB e SIM1 são associadas à obesidade hiperfágica severa (64,71,72). O BDNF e seu receptor NTRK2 são ligados à proliferação, sobrevivência e diferenciação de neurônios no desenvolvimento e à plasticidade pós-natal de sinapses no sistema nervoso central, especialmente no hipotálamo. SIM1 é um fator de transcrição na diferenciação neuronal do núcleo paraventricular do hipotálamo, uma área crítica do controle da fome. Não há referência de nenhum caso humano com deficiência

completa de BDNF, NTRK2 e SIM1; porém as deficiências parciais desses três, em macacos, induzem obesidade hiperfágica e problemas no desenvolvimento (73,74).

Em relação aos estudos de associação para outros genes-candidatos, existem evidência fracas para o gene do receptor adrenérgico $\beta 3$ (ADRB3), que é bastante expresso no tecido adiposo e regula o metabolismo lipídico e a termogênese (75). Alguns estudos mostram uma associação significativa de um polimorfismo do gene ADRB3 com IMC (76,77).

No entanto, as proteínas de desacoplação (UCPs) constituem uma família de proteínas cuja função é desacoplar a fosforilação oxidativa do ADP para ATP, levando à geração de calor. A proteína UCP-1 é expressa no tecido adiposo, a UCP-2 no tecido adiposo branco e a UCP-3 na musculatura esquelética (78). Um polimorfismo no gene UCP-2 associa-se com obesidade e alteração do IMC em diferentes populações: esta variante pode afetar a estabilidade do m-RNA da UCP-2, aumentando o risco de obesidade central em homens chineses, hindus e espanhóis (79-82).

Formas poligênicas de obesidade comum

A hipótese mais aceita atualmente para as formas mais comuns de obesidade é a de que múltiplos alelos comuns interagentes contribuem para a doença, onde cada variante de cada gene tem um efeito modesto no fenótipo da doença. Além disso, é aceito que estes múltiplos alelos sejam bem representados nas populações humanas (83).

Os estudos de associação com gene-candidato foram amplamente usados, mas levaram a vários insucessos. Milhares de genes candidatos para obesidade foram selecionados a partir de seu papel na regulação do peso corporal, mas a maioria deles nunca foi consistentemente replicada nos estudos de seguimento. Diversas e extensas metanálises foram realizadas para um pequeno número de variantes e só poucos genes foram associados a fenótipos de obesidade (82,83). Neste caso, em contraste com a obesidade monogênica, cada mutação leva a uma variante que acarreta só uma suscetibilidade e requer a presença de outras variantes em adição a um meio obesogênico para determinar um fenótipo, tornando sua caracterização uma tarefa difícil.

Cronologicamente, a identificação de suscetibilidade genética foi inicialmente baseada na epidemiologia genética (*genome-wide linkage study* e estudos de associação de gene candidato). Mais recentemente, a identificação dos genes suscetíveis passou a ser feita através de *genome-wide association studies* (GWAS)

que mostram localizações genômicas mais acuradas para genes ligados à obesidade e levam à confirmação, ou não, da implicação de variantes sugeridas pela primeira geração de abordagem. Os escaneamentos de ligação genômica ampla baseados em famílias examinam se marcadores genéticos, localizados em diferentes loci do genoma, cossegregam com uma doença ou um traço entre gerações. Por meio desta abordagem, foi possível a identificação de alguns genes-candidatos. Dentre estes estão o gene para glutamato descarboxilase 2 (GAD2) na origem do ácido gama-butírico que regula positivamente o ingresso de alimento, o gene para ectonucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase 1 (ENPP1), que tem um papel no sensoriamento cerebral da insulina, e o gene SLC6A14, um transportador de triptofano implicado na regulação do apetite. Evidencia-se um sucesso nas análises de ligação quando as variantes são comuns e exercem um forte efeito, mas os estudos de replicação da associação falham para vários loci, o que sugere que as variantes devem ter só um pequeno efeito genético quando sozinhas (84,85).

Nos estudos de associação de gene-candidato, polimorfismos em genes conhecidos por codificar proteínas envolvidas na regulação do balanço energético em obesidade monogênica são testados para associação com traços de obesidade em nível populacional. Dentre os genes investigados estão LEP, LEPR, PCSK1, POMC, BDNF e sinalizadores neurais tipo receptor canabinoide (CNR1), receptor da dopamina (DRD2) ou da serotonina (2C HTR2C) ou funcionais (SLC6A4) – que foram associados com obesidade ou são preditores de IMC (84). De modo interessante, atualmente, uma alteração do gene MC4R é considerada uma das causas mais relevantes para a obesidade comum. Outra importante alteração gênica, embora mais rara, diz respeito ao gene PCSK1, sendo que algumas variantes foram associadas com o nível de IMC e risco para obesidade (58,66,86-89).

Os estudos de escaneamento tipo genome-wide linkage envolvem a genotipagem de famílias recrutadas pela alta ocorrência da doença, utilizando diversos marcadores microssatélites polimórficos que são regularmente espaçados em todo o genoma, seguido por um cálculo sobre o grau de ligação do marcador ao traço da doença. Esta abordagem levou à identificação de mais de 1.200 genes envolvidos em doenças humanas mendelianas, mas a aplicação desta técnica para a análise de traços genéticos complexos é controversa (90). Muitos estudos de ligação para traços relacionados à obesidade foram feitos, demonstrando algumas evidências significativas, porém as metanálises realizadas não foram capazes de confirmar um locus

maior para a obesidade (91-93). Em crianças, contudo, o locus mais importante descoberto foi no gene FTO (fat mass and obesity-associated gene). Variantes do gene FTO foram associadas com ganho de peso e ganho ponderal já na segunda semana de vida. Este gene é altamente expresso no cérebro, em especial nos núcleos hipotalâmicos envolvidos na regulação do balanço energético. Crianças que carregam o alelo de risco mostram aumento no consumo de alimento e mais episódios de fome, com preferência para alimentos com alta carga energética, e uma saciedade diminuída (94,95). Um estudo mostrou a associação de SNPs (rs9939609, rs8050136, rs1121980, rs1421085, rs17817449, rs3751812) no gene FTO em adultos com resistência à insulina com alterações no IMC de norte-americanos brancos não hispânicos e hispânicos. Quatro outras variantes foram associadas ao IMC só em hispânicos, mas só a variante rs1108102 foi associada a norte-americanos de origem africana. Entretanto, todas as associações com medidas de homeostasia da glicose não foram significativas após o ajuste para as comparações múltiplas e, por isso, a sugestão de que o efeito das variantes de FTO sobre a adiposidade dependa da etnicidade (96).

Uma explicação para a falta de confirmação de um locus maior para obesidade é que a doença pode incluir genes que possuem um pobre efeito sobre a adiposidade, além da importante heterogeneidade genética e dependência variável aos fatores ambientais. Estes fatores, por si, não explicam os picos significativos de ligações encontrados nos estudos individuais sobre várias localizações cromossômicas. Uma segunda hipótese é que esses picos estejam relacionados a variantes raras com alta penetrância na doença com traços complexos tipo obesidade. As simulações estatísticas predizem que odds-ratio deve ser maior do que 2 para induzir picos significativos de ligação em conjuntos modestos de amostras familiares (90).

De qualquer forma, as tentativas de identificar novos genes para obesidade com o uso de estratégias de genome-wide linkage levaram a vários insucessos, tendo resultados positivos só em variantes genéticas de dois genes. Uma evidência significativa de ligação para obesidade infantil foi estabelecida para o cromossomo 6q22.31-q23.2 em linhagens familiares francesas, com identificação de variantes do gene ENPP1 (97). Este gene inibe a sinalização do receptor da insulina, promovendo obesidade e diabetes tipo 2, sendo que a resistência à insulina no cérebro induz a hiperfagia e obesidade; há replicação desse achado num estudo alemão (92).

Além disso, houve a identificação de um grande locus de predisposição para obesidade severa em

mulheres norte-americanas brancas no cromossomo 4p15-p14, envolvendo o gene TBC1D1, estudo este replicado numa coorte francesa. A proteína TBC1D1 está ligada à adipogênese, sinalização da insulina e uso de lipídeos nos músculos esqueléticos (92, 98-102).

Estudos do tipo genome-wide association (GWAS) revolucionaram a busca por variantes genéticas comuns para doenças complexas ao interrogar o genoma para milhares de SNPs e identificar qual destes ocorre mais frequentemente para uma determinada doença. Até 2010, havia cerca de 900 publicações deste tipo para 165 traços (<http://www.genome.gov>). Desta forma, esses estudos levaram a inúmeras contribuições, tais como: 1) construção de conceitos tipo “bloco” de desequilíbrio de ligação e determinação do mapa de SNPs para o genoma humano através do International Hapmap Consortium (80% das variações genéticas comuns, ou seja, mais de 14 milhões de variantes, em indivíduos de ancestralidade europeia podem ser capturados pela genotipagem de 300.000 SNPs selecionados); 2) desenvolvimento e comercialização de métodos para genotipar usando microarranjos de SNPs; e 3) recrutamento, em larga escala, de casos controle e coortes baseadas em população com amostras de DNA e fenótipos viáveis.

A maior descoberta, no caso da obesidade poligênica comum, foi a identificação de uma variação no primeiro íntron do gene FTO, sendo esta variação considerada como a maior contribuição para a obesidade poligênica em população de ancestralidade europeia (103-105). Um conjunto de genes associados com obesidade comum e altamente expressos no hipotálamo, além dos já supracitados, envolve KCTD15 (canal de potássio portador de domínio de tetramerização 15), GNPDA2 (glucosamina-6-fosfato deaminase-2), MTCH2 (homólogo do transportador mitocondrial 2), SDCCAG8 (antígeno 8 do câncer de cólon sorologicamente definido), FAIM2 (molécula inibitória de apoptose mediada por FAS 2), ETV5 (ets variante 5), NCP1 (gene endossomal/lisossomal Niemann-Pick C1) e PRL (prolactina) que estariam envolvidos na suscetibilidade para obesidade via efeitos no sistema nervoso central (106).

Outras associações, observadas por meio de GWAS, que afetam a suscetibilidade para a obesidade e que operam periféricamente, envolvem o gene TFAP2B (fator de transcrição AP 2 beta), o qual é expresso em tecido adiposo e está envolvido no transporte de glicose e acúmulo de lipídeos, o gene NCR3 (receptor de citotoxicidade natural 3) e o gene relacionado a fosfotriesterase que age através da baixa inflamação no tecido adiposo, o gene c-MAF, um fator transcricional

envolvido na adipogênese, e o gene LYPLAL1 (similar da lisofosfolipase-1) que aumenta a expressão no tecido adiposo subcutâneo em mulheres (107-109). Uma recente revisão sistemática sobre variantes genéticas de SNPs e síndrome metabólica, mostrou correlação com 9 SNPs dos genes GNB3 (subunidade beta 3 da proteína G), PPARG (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama), fator de transcrição TCF7L2, APOA5 (apolipoproteína A-V), APOC3 (apolipoproteína C-3), APOE (apolipoproteína E), CETP (proteína de transferência dos ésteres de colesterol), todos envolvidos no metabolismo de lipídeos (110).

Os projetos GWAS, para vencer as limitações de seus resultados, elaboraram a proposta de sequenciamento em larga escala sobre pacientes com formas extremas de traços fenotípicos e a do refinamento de GWAS com adição de variantes de muito baixa frequência, com uso de chips (111), como o *Global Lipids Consortium* que genotipou 100.000 indivíduos, envolvendo 46 GWAS individuais. Entretanto, o mecanismo subjacente de como os genes ou as variantes genômicas da maioria destes loci relacionam-se ao fenótipo observado ainda espera clarificação. Assim, dentro dos estudos GWAS foram utilizadas técnicas genômicas computacionais que permitem estudos funcionais (biologia molecular) em larga escala, combinando estudos genotípicos com estratégias genômicas, de tal modo que a viabilidade da informação funcional sobre genes individuais e redes de genes e repositórios combinados com esquemas estatísticos poderosos poderia permitir prever fatores de relevância para um fenótipo de interesse (112), isto porque a variação em traço e o risco de doença parecem ser explicados por raras variantes de <1% de frequência de alelo (113). De um modo geral, para genes candidatos sem papel bioquímico já estabelecido no metabolismo lipídico, pouco insight funcional foi ganho até o momento (uma exceção é o gene SORT1, cuja superexpressão em fígado de ratos diminui significativamente os níveis de colesterol de HDL). Isso é verdadeiro para os 59 loci associados com traços lipídicos pela primeira vez e para os 33 loci genômicos associados com doença cardiovascular até hoje (apenas seis medeiam risco de doença através de fatores de risco conhecidos, residindo em regiões não previamente conhecidas). Uma hipótese para explicar isso é que variantes identificadas através de GWAS parecem ser não codificantes.

Outro caminho para vencer esta situação foi integrar GWAS com estudos epigenéticos, por exemplo, investigando a associação entre níveis lipídicos séricos e sexo, fumo, álcool e composição corporal num grande número de indivíduos (114). Um problema foi a desigualdade de como as informações fenotípicas

foram armazenadas em diferentes estudos de coorte. Somente quando confundidores putativos, como diabetes tipo 2 e tratamento com niacina foram levados em conta é que a associação entre o locus TRIB1 e níveis de HDL ficaram evidentes (111). Outro problema é que a maioria dos estudos tipo GWAS usa estatística linear e há necessidade de focar em epistasia não linear, na medida em que já foi evidenciada interação entre genes na modulação de níveis séricos de HDL, num modelo heterogêneo e não multiplicativo sinérgico, por exemplo, os genes LPL e ABCA1 levam a efeitos numa direção, mas sua interação leva a efeitos na direção oposta (115). Isso poderia explicar as dificuldades de replicação de estudos tipo GWAS.

A estratégia mais utilizada para complementar GWAS, entretanto, é hoje a análise da expressão gênica através de estudos sobre a expressão quantitativa de traços de locus (eQTL), a qual usa níveis de RNAm relevantes com traços quantitativos para mapear fenótipos. Seu sucesso se deve principalmente ao fato de que a maioria dos SNPs associados a traços é não codificante e, em vez de imediatamente atrapalhar a função da proteína, em alguns casos, parece mais modular a atividade do gene ao nível do transcrito (113). Como ainda não está claro como a maioria destes traços associados a SNPs não codificantes afeta a abundância transcripcional de genes ativos, há então necessidade de identificar elementos funcionais dentro das regiões genômicas não codificantes e estabelecer como estas regulações poderiam variar sob diferentes tecidos e condições experimentais (116). Por isso, apesar do sucesso em mapear múltiplos genes, a falta de conhecimento sobre como eles funcionam parece embaraçadora.

Variações genômicas estruturais

Mais recentemente, o advento das tecnologias de escaneamento de genoma levou à descoberta de que diferenças genéticas entre pessoas podem derivar de perda ou duplicação de segmentos de cromossomos (copy number variants - CNV, ou variantes estruturais). Uma CNV pode ser definida como uma variação, de uma pessoa para a outra, no número de cópias (deleção, inserção ou duplicação) de um dado gene. Este efeito de “dosagem gênica” cria um risco para uma doença ou confere proteção para ela. A extensão em que as CNVs podem contribuir para explicar a “herança escondida” de traços e doenças comuns ainda não está clara (117).

Muitas CNVs foram descobertas em crianças extremamente obesas, consistindo de apagamentos na região genômica, cobrindo genes para receptores olfatórios, porém a associação com obesidade foi

muito pequena para contribuir substancialmente para a base genética do início precoce da obesidade (118). Por outro lado, utilizando GWAS, uma rara deleção na região cromossômica p11.2 na qual está o gene SH2B1 (Proteína 1 do adaptador de SH2B, envolvido na sinalização de leptina e insulina), foi descrita, cujo fenótipo exibiu hiperfagia e severa resistência à insulina com retardo mental, em estudos do tipo GWAS. Esta CNV aparece em 0,5 a 0,7% dos indivíduos com obesidade severa (118). Um estudo relatou 17 raros loci de CNV só encontrados em obesos, mas não em crianças magras de origem europeia; oito desses loci aparecem em crianças obesas de origem africana, mas não em magros da mesma etnia; apenas esses oito loci foram ligados à suscetibilidade genética da obesidade infantil comum (119-121).

Raras CNVs com mais do que duas megabases estão presentes em 1,3% dos obesos e ausentes nos magros (122). Entretanto, é relevante ressaltar que uma grande fração dos CNVs humanos é proveniente de polimorfismos dialélicos comuns e que a maioria destes CNVs estão em desequilíbrio de ligação com SNPs adjacentes, tal que sua contribuição aos fenótipos possa ser acessada via estes SNPs (117,123,124). Como CNVs comuns podem estar em grande desequilíbrio de ligação com SNPs no genoma humano, isto sugere que as variantes estruturais comuns associadas à doença podem ser identificadas por estudos de associação genômica ampla de SNPs. Aplicando esta abordagem, verificou-se que uma deleção próxima ao gene NEGR1 (regulador do crescimento neuronal 1) e uma deleção do gene GPRC5BT (receptor ligado à proteína G da família C grupo 5 membro B) foram associadas com variação nos níveis de IMC (125) e que uma duplicação no gene LY86 foi associado com alterações na razão cintura-quadril (126).

CONCLUSÃO

A aplicação de diferentes tecnologias, cada vez mais sofisticadas, vem permitindo o avanço no conhecimento sobre as associações entre variações genéticas e o risco para obesidade. Como discutido neste trabalho, diversos genes responsáveis por uma série de funções fisiológicas, muitas vezes em vias metabólicas diferentes, parecem estar envolvidos. O ambiente tem a capacidade de influenciar diretamente na suscetibilidade ao desenvolvimento da obesidade, seja por meio de hábitos e estilo de vida do indivíduo, seja por indução de modificações epigenéticas. O conhecimento das bases genéticas em conjunto com as influências ambientais que levam à obesidade poderá permitir identificar populações vulneráveis e intervir de modo a controlar esta epidemia em gerações futuras.

REFERÊNCIAS

1. Wells JC, Fewtrell MS. Measuring body composition. *Arch Dis Child*. 2006; 91(7):612-7.
2. Wells JC, Fuller NJ, Dewit O, Fewtrell MS, Elia M, Cole TJ. Four-component model of body composition in children: density and hidratation of fat-free mass and comparison with simple models. *Am J Clin Nutr*. 1999;69(5):904-12.
3. Harrington TA, Thomas EL, Frost G, Modi N, Bell JD. Distribution of adipose tissue in the newborn. *Ped Res*. 2004;55(3):437-41.
4. Yajnik CS, Fall CH, Coyaji KJ, Kirle SI, Rao S, Barker DJ et al. Neonatal antropometry: the thin-fat baby. The Puna Maternal Nutrition Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27(2):173-80.
5. Wells JC, Fewtrell MS, Davies PS, Williams JE, Coward WA, Cole TJ. Prediction of total body water in infant and children. *Arch Dis Child*. 2005;90(9):965-71.
6. Ellis KJ, Yao M, Shypailo RJ, Urlando A, Wong WW, Heird WC. Body-composition assessment in infancy: air displacement plethysmography compared with a reference 4-compartment model. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(1):90-5.
7. Dean, M. Approaches to identify genes for complex human diseases: lessons from Mendelian disorders. *Human Mutat*. 2003;22:261-74.
8. Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*. 1996;273:1516-7.
9. International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature*. 2005;437:1299-320.
10. Barret JC, Cardon LR. Evaluating coverage of genome-wide association studies. *Nat Genet*. 2006;38:659-62.
11. Pe'er I, de Bakker PL, Maller J, Yelemsky R, Altskuler D, Daly MJ. Evaluating and improving power in whole-genome association studies using fixed marker sets. *Nat Genet*. 2006;38:663-7.
12. Jorgenson E, White JS. A gene-centric approach to genome-wide association studies. *Nat Genet*. 2006; 7:885-91.
13. Daly AK, Day CP. Candidate gene case-control association studies: advantages and potentials pitfalls. *Br J Clin Pharmacol*. 2001;52:489-52.
14. Cowley AW Jr. The genetic dissection of essential hypertension. *Nat Rev Genet*. 2006;7:829-40.
15. Saunders CL, Chiodini BD, Sham P, Lewis EM, Abkevich V, Adevero MA et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity*. 2007; 15:2263-75.
16. Reilly JJ, Armstrong J, Dorosty A, Emmett PM, Ness A, Rogers I et al. Early life risk factors for obesity in childhood cohort study. *BMJ*. 2005;330(7504):1357.
17. Lee JH, Reed DR, Price RA. Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping between obesity genes. *Int J Obst Relat Metab Disord*. 1997;21(10):935-40.
18. Platte P, Papanicolaou GJ, Johnston J, Klein CM, Doheny GT, Pugh EW et al. A study of linkage and association of body mass index in the Old Order Amish. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2003;121:71-80.
19. Adeyemo A, Luke A, Cooper R, Wu X, Tayo B, Zhu X et al. A genome-wide scan for body mass index among Nigerian families. *Obes Rev*. 2003;11:266-73.
20. McQueen MB, Bertram L, Rimm EB, Blacker D, Santangelo SL. A QTL genome scan of a metabolic syndrome and its components traits. *BMC Genet*. 2003;4(suppl 1):S96.
21. Allison DB, Kaprio J, Korkeila M, Koskenuvo M, Neale MC, Hayakawa K et al. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996;20:501-6.
22. Pietilainen KH, Kaprio J, Rissanen A, Winter T, Rimpela A, Viken RJ, Rose RJ et al. Distribution and heritability of BMI in Finnish adolescents aged 16y and 17y: a study of 4884 twins and 2509 singletons. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999;23:107-15.
23. Hsueh WC, Mitchell BD, Aburomia R, Polen T, Sakul H, Gelderehmm et al. Diabetes in the Old Order Amish: characterization and heritability analysis of the Amish Family Study Diabetes Study. *Diabetes Care*. 2000;23:595-601.
24. Sakul H, Pratley R, Cardon L, Ravulssin E, Mott D, Bocardus C. Familiality of physical and metabolic characteristics that predict the development of non-insulinic-dependent diabetes mellitus in Pima Indians. *Am J Hum Genet*. 1997;60:651-6.
25. Poulsen P, Vaag A, Kyvik K, Beck-Nielsen H. Genetic versus environmental aetiology of the metabolic syndrome among male and female twins. *Diabetologia*. 2001;44:537-43.
26. Freeman MS, Mansfield MW, Barret JH, Grant PJ. Heritability of features of the insulin resistance

- syndrome in a community-based study of healthy families. *Diabet Med.* 2002;19:994-9.
27. Wu DM, Hong Y, Sun CA, Sung PK, Rao DC, Chu NT. Familial resemblance of adiposity-related parameters: results from a health check-up population in Taiwan. *Eur J Epidemiol.* 2003;18:221-6.
 28. Schousboe K, Visscher PM, Erbas B, Kyvik KO, Hopper JL, Henrikson JC et al. Twin study of genetic and environment influences on adult body size, shape, and composition. *Int J Obes.* 2004;28:39-48.
 29. Rice T, Daw EW, Gagnon J, Bouchard C, Leon AS, Skinner JS et al. Familial resemblance for body composition measures: the HERITAGE Family Study. *Obes Rev.* 1997;5:557-62.
 30. Luke A, Guo X, Adeyemo AA, Wilks R, Forrester T, Loh W Jr et al. Heritability of obesity-related traits among Nigerians, Jamaicans and US black people. *Int J Obes.* 2001; 25:1034-41
 31. Lajunen HR, Kaprio J, Keski-Rahkonen A, Rose RJ, Pulkkinen L, Rissanen A et al. Genetic and environmental effects on body mass index during adolescence: a prospective study among Finnish twins. *Int J Obes (Lond).* 2009;33(5):559-67
 32. Demerath EW, Choh AC, Czerwinski SA, Lee M, Lange LA, Guo G, Gordiu-Larsen P. Genetic and environmental influences on infant weight and weight change: the Fels Longitudinal Study. *Am J Hum Biol.* 2007;19(5):692-702.
 33. North KE, Graff M, Adair LS, Lange EM, Lange LA, Guo G, Cardin-Larsen P. Genetic epidemiology of BMI and body mass change from adolescence to young adulthood. *Obesity.* 2010;18(7):1474-5.
 34. Haworth CM, Plomin R, Carnell S, Wardle J. Childhood obesity: Genetic and environmental overlap with normal-range BMI. *Obesity.* 2008;16(7):1583-90
 35. Mustelin L, Silventoinen K, Pirttilainen K, Rissanen A, Kaprio J. Physical activity reduces the influence of genetic effects on BMI and waist circumference: a study in young adults twins. *Int J Obes.* 2009;33(4):29-36.
 36. McCaffery JM, Papandonatos GD, Bond DS, Lyons MJ, Wing ER. Gene x environment interaction in vigorous exercise and body mass index among male Vietnam-era twins. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(4): 1011-8.
 37. Silventoinen K, Rokholm B, Kaprio J, Sorensen TA. The genetic and environmental influences on child obesity: a systematic review of twin and adoption studies. *Int J Obes.* 2010;34:29-40.
 38. Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, Mc-Clearn GE. The body-mass index of twins who have been reared apart. *N Eng J Med.* 1990;322:1483-7.
 39. Cooper R, Hypponen E, Berry D, Power C. Associations between parental and offspring adiposity up to midlife: the contribution of adult lifestyle in the 1958 British Birth Cohort Study. *Am J Clin Nutr.* 2010;92:946-52.
 40. Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Plomin R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(2):398-404.
 41. Martin LJ, Woo JG, Morrison JA. Evidence of shared genetic effects between pre- and post obesity epidemic BMI levels. *Obesity.* 2010;18(7):1378-82.
 42. Luke A, Guo X, Adeyemo AA, Wilks R, Forrester T, Lowe W Jr et al. Heritability of obesity-related traits among Nigerians, Jamaicans and US black people. *Int J Obes.* 2001;25:1034-41.
 43. Malis C, Rasmussen EL, Poulsen P, Petersen I, Christensen K, Beck-Nielsen H et al. Total and regional fat distribution influenced by genetic factors in young and elderly twins. *Obes Rev.* 2005;11(12):2139-41.
 44. Beardsall K, Ong KJ, Murphy N, Ahmed JL, Zhao JH, Peeters MW, Dunger DS. Heritability of childhood weight gain from birth and risk markers for adult metabolic disease in prepubertal twins. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(10):3711-3.
 45. Carnell S, Haworth CM, Plomin R, Wardle J. Genetic influence on appetite in children. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(10):1468-73.
 46. Mustelin I, Latvala A, Pietilainen KH, Pirila P, Sonijärni AR, Kujala VM et al. Association between sports participation, cardiorespiratory fitness and adiposity in young adults twins. *J Appl Physiol.* 2011;110(3):681-6.
 47. Bouchard C, Tremblay A, Nadeau A, Depres JP, Theriault G, Boulay MR et al. Genetic effect in resting and exercise metabolic rates. *Metabolism.* 1989;38(4):364-70.
 48. Yang W, Kelly T, He J. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiol Review.* 2007;29:49-61.
 49. Farooqi LS, O'Rahilly. Mutations in ligands and receptor of the leptin-melanocortin pathway that lead to obesity. *Nutr Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008;4(10):569-77.
 50. Montague CT, Farooqi LS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.* 1997;387(6636):903-8.

51. Clement K, Vaise C, Lahlou N et al. A mutation in a human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. 1998;392(6674):398-401.
52. Farooqi LS, Wangensteen T, Collins S, Kimber W, Matarese G, Koogh JM et al. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *N Eng J Med*. 2007;356(3):237-47.
53. Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Gruters A et al. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet*. 1998;19(2):155-7.
54. Clement K, Dubern B, Mencarelli M, Czernichow P, Ito S, Wakamatsu K et al. Unexpected endocrine features and normal pigmentation in a young adult patient carrying a novel homozygous mutation in the POMC gene. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2008;93(12):4955-62.
55. Jackson RS, Creemers JW, Ohagi S, Raffin-Sanson ML, Sanders L et al. Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet*. 1997;16(3):303-6.
56. Jackson RS, Creemers JW, Farooqi LS, Raffin-Sanson ML, Varro A, Dockray GJ et al. Small-intestinal dysfunction accompanies the complex endocrinopathy of human proprotein convertase 1 deficiency. *J Clin Invest*. 2003;112(10):1550-60.
57. Creemers JW, Choquet H, Stijnen P, Vatin V, Pigeyre M, Beckers S et al. Heterozygous mutations causing partial prohormone convertase 1 deficiency contribute to human obesity. *Diabetes* 2012;61(2):383-90.
58. Farooqi LS, Keogh JM, Yeo GS, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S et al. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med*. 2003;348(12):1085-95.
59. Lubrano-Berthelier C, Durand E, Dubern B, Shapiro A, Dazin P, Weill J et al. Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated MC4R mutations. *Hum Mol Genet*. 2003;12:145-53
60. Savastano DM, Tanofsky-Kraff M, Han JC, Ning C, Sorg RA, Roza KA et al. Energy intake and energy expenditure among children with polymorphisms of the melanocortin-3 receptor. *Am J Clin Nutr*. 2009;90:912-20.
61. Mencarelli M, Dubern B, Alili R, Maestrini S, Renajiba L, Tagliaferri M et al. Rare melanocortin-3 receptor mutation with in vitro functional consequences are associated with human obesity. *Hum Mol Genet*. 2011;20:392-9.
62. Zegers D, Beckers S, de Freitas F, Peeters AV, Verhulst SL, Massa G et al. Identification of three novel genetic variants in the melanocortin-3 receptor of obese children. *Obesity*. 2011;19:152-9.
63. Holder JL, Butte NF, Zinn AR. Profound obesity-associated with a balanced translocation that disrupts the SIM 1 gene. *Hum Mol Genet*. 2000;9:101-8.
64. Yeo GE, Connie-Hung CC, Rochford J, Keogh J, Cray J, Sivaramakrishnan S et al. A de novo mutation affecting human TrkB associated with severe obesity and developmental delay. *Nat Neurosci*. 2004;7:1187-9
65. Friedel S, Horro FF, Wermter AK, Geller F, Dempfle A, Reichwald K et al. Mutation screen of the brain derived neurotrophic factor (BDNF): identification of several genetic variants and association studies in patients with obesity, eating disorders, and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005; 132B:196-9.
66. Stutzmann F, Tan K, Vatin V, Dina C, Jouret B, Tichet J et al. Prevalence of melanocortin-4 receptor deficiency in Europeans and their age-dependent penetrance in multigenerational pedigrees. *Diabetes*. 2008;57(9):2511-8.
67. Farooqi LS, Drop S, Clements A, Keogh JM, Biernacka J, Lowenbein S et al. Heterozygosity for a POMC-null mutation and increased obesity risk in human. *Diabetes*. 2006;55(9):2540-53.
68. Farooqi LS, Keogh JM, Kamath S, Jones S, Gibson WT, Trussell R et al. Partial leptin deficiency and human adiposity. *Nature*. 2001;414(6859):34-5.
69. Farooqi LS, Volders K, Stanhope R, Mensker R, White A, Lank E et al. Hyperphagia and early-onset obesity due to a novel homozygous missense mutation in prohormone convertase 1/3. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(9):3369-73.
70. Hinney A, Bettecken T, Tarnow P, Brumm H, Reichwald K, Lichtnell P et al. Prevalence spectrum and functional characterization of melanocortin-4 receptor gene mutations in a representative population-based sample and obese adults from Germany. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;9(5):1761-9.
71. Holder JL Jr, Butte NF, Zinn AR. Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Hum Mol Genet*. 200;9(1):101-8.
72. Gray J, Yeo GS, Cox JJ, Morton

- J, Adlam AL, Keogh JM et al. Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Diabetes*. 2006; 55(12):3366-71.
73. Michaud JL, Boucher F, Melnyk A, Gauthier F, Goshu E, Lévy E et al. Sim1 haploinsufficiency causes hyperphagia, obesity and reduction of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Hum Mol Genet*. 2001;10(14):1465-73.
74. 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;6(7):736-42
75. Emoring L, Blin N, Strosberg AD. The human β 3-adrenergic receptor: the search for a physiological function. *Trends Pharmacol Sci*. 1994;15:3-7
76. Allison DB, Heo M, Faith MS, Pietrobelli A. Meta-analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of β 3-adrenergic receptor gene with body mass index. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998;22(6):559-66.
77. Kurokawa N, Nakai K, Kamed M, Liu ZM, Sato H. Association of BMI with the β 3-adrenergic receptor gene polymorphism in Japanese: meta-analysis. *Obes Res*. 2001;9:741-5.
78. Harper M-E, Green K, Brandt MD. The efficiency of cellular energy transduction and its implication for obesity. *Annu Rev Nutr*. 2008;28:13-33
79. Fleury C, Neuerowa M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyrueis C et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linkage to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet*. 1997;15:269-72
80. Wang H, Chu WS, Lu T, Hasstedt SJ, Kern PA, Elbein SC. Uncoupling protein-2 polymorphisms in type 2 diabetes, obesity, and insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;280:E1-7.
81. Shen H, Qi L, Tai ES, Chew SK, Tan CE, Ordovas JM. Uncoupling protein-2 promotes polymorphism -866G/A central adiposity and metabolic syndrome in Asians. *Obesity*. 2006;14:656-61.
82. Zathana R, Ochoa MC, Morena-Aciaga ML, Martínez JA, Marti A. Influence of the -866G/A polymorphism of the UCP2 gene on an obese pediatric population. *Nutr Hosp*. 2006; 21:52-6.
83. Reich DE, Landler ES. On the allelic spectrum of human disease. *Trends Genet*. 2001;17(9):502-1078.
84. Walley AJ, Asher JE, Froguel P. The genetic contribution to non-syndromic obesity. *Nat Rev Genet*. 2009;10:431-42.
85. Saunders CL, Chioni BD, Sham P, Lewis CM, Abkevich V, Adeyemo AA et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity*. 2007;15:2263-75.
86. Geller F, Reichwald K, Dempfle A, Illig T, Vollmert C, Herpertz S et al. Melanocortin-4 receptor gene variant 1103 is negatively associated with obesity. *Am J Hum Genet*. 2004;74(3):572-81.
87. Stutzmann F, Vatin V, Cauchi S, Morandi A, Jouret B, Landt O et al. Non-synonymous polymorphisms in melanocortin-4 receptor protect against obesity: the two facets of a Janus obesity gene. *Hum Mol Genet*. 2007;16(15):1837-44.
88. Wang D, Ma J, Zhang S, Hinney A, Hebebrand J, Wang Y et al. Association of the MC4R V103I polymorphism with obesity: a Chinese case-control study and meta-analysis in 55,195 individuals. *Obesity*. 2010;18(3):573-9.
89. Benzinou M, Creemers JW, Choquet H, Lobbens S, Dina C, Durand E et al. Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat Genet*. 2008; 40(8):943-5.
90. Altmüller J, Palmer LJ, Fischer G, Scherb H, Wujst M. Genomewide scans of complex human diseases: true linkage is hard to find. *Am J Hum Genet*. 2001;69(5):936-50.
91. Meyre D, Lecoœur C, Delplanque J, Francke S, Vatin V, Durand E et al. A genome-wide scan for childhood obesity-associated traits in French families shows significant linkage on chromosome 6q22.31-q23.2. *Diabetes*. 2004;53(3):803-11.
92. Stone S, Abkevich V, Hunt SC, Gutin A, Russell DL, Neff CD et al. A major predisposition locus for severity obesity, at 4p15-p14. *Am J Hum Genet*. 2002;70(6):1459-68.
93. Saunders CL, Chiodini BD, Sham P, Lewis CM, Abkevich V, Adeyemo AA et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity*. 2007; 15(9):2263-75.
94. López-Bermejo A, Petry CJ, Diaz M, Sebastiani G, de Zegher F, Dunger DB et al. The association between the FTO gene and fat mass in human develops by the postnatal age of two weeks. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2008;93:1501-5.
95. Tanofsky-Kraff M, Han JC, Anandalingam K, Shomaker LB, Columbo KM, Wolkoff LE et al.

- The FTO gene rs9939609 obesity risk allele and loss of control over eating. *Am J Clin Nutr.* 2009;90:1483-8.
96. Wing MR, Ziegler JM, Langefeld CD, Roh BH, Palmer ND, Mayer-Davis EJ et al. Analysis of FTO gene variants with obesity and glucose homeostasis measures in the multiethnic Insulin Resistance Atherosclerosis Study cohort. *Int J Obesity.* 2011;35:1173-83.
 97. Bottcher Y, Korner A, Reinehr T, Enigk B, Kiess W, Stumvoll M et al. ENPP1 variants and haplotypes predispose to early onset obesity and impaired glucose and insulin metabolism in German obese children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(12):4948-52.
 98. Stone S, Abkevich V, Russell DL, Riley R, Timms K, Tran T et al. TBC1D1 is a candidate for a severe obesity gene and evidence for a gene/gene interaction in obesity predisposition. *Hum Mol Genet.* 2006;15(18):2709-20.
 99. Meyre D, Farge M, Lecoecur C et al. R125W coding variant in TBC1D1 confers risk for familial obesity and contributes to linkage on chromosome 4p14 in the French population. *Hum Mol Genet.* 2008;17(12):1798-802.
 100. Ross SE, Erickson RL, Gerin I, DeRose PM, Bajnok L, Longo KA et al. Microarray analyses during adipogenesis understanding the effect of Wnt signaling on adipogenesis and the roles of liver X receptor alpha in adipocyte metabolism. *Mol Cell Biol.* 2002;22(16):5989-99.
 101. Zhou QL, Jiang ZY, Holik J, Chawla A, Hagan GN, Leszyk J et al. Akt substrate TBC1D1 regulates GLUT1 expression through the mTOR pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem J.* 2008;411(3):647-55.
 102. Chadt A, Leicht K, Deshmukh A, Jiang LQ, Scherneck S, Bernhardt U et al. Tbc1d1 mutation in lean mouse strain confers leanness and protects from diet-induced obesity. *Nat Genet.* 2008;40(11):1354-9.
 103. 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.* 2007;316(5826):889-94.
 104. 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;39(6):724-6
 105. Hinney A, Nguyen TT, Scherag A, Friedel S, Brönner G, Müller TD et al. Genome wide association (GWA) study for early onset extreme obesity supports the role of the mass and obesity associated gene (FTO) variants. *PLoS ONE.* 2007; 2(12):e1361.
 106. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, 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;41:25-34.
 107. Lindgren CM, Heid IM, Randall JC, Lamina C, Steinthorsdottir V, Qi L et al. Genome-wide association scan meta-analysis identifies three loci influencing adiposity and fat distribution. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000508.
 108. Meyre D, Delplanque J, Chèvre JC, Lecoecur C, Lobbens S, Gallina S, et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet.* 2009;41:157-9.
 109. Virtue S, Vidal-Puig A. It's not how fat you are, it's what you do with it that counts. *PLoS Biol.* 2008;6:e237.
 110. Povel CM, Boer JM, Reiling E, Feskens EJ. Genetic variants and the metabolic syndrome: a systematic review. *Obesity Rev.* 2011;12:952-67.
 111. Teelovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, Pirruccello JP et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature.* 2010;466:707-10.
 112. Guan V, Aecker-Bicknell CL, Kell B, Troyanskaya OG, Hibbs MA. Functional genomics complements qualitative genetics in identifying disease gene-association. *PLoS Comput Biol.* 2010;6:e1000991.
 113. Johansen GT, Wang I, Lanktree MB, Cao H, McIntyre AD, Ban MR et al. Excess of rare variants in genes-identified by genome-wide association study of hypertriglyceridemia. *Nat Genet.* 2010;42:684-7.
 114. Surukha I, Isaacs A, Karssen LC, Laurila PP, Middelberg RP, Tikkanen E et al. A genome-wide screen for interactions reveals a new locus on 4p15 modifying the effect of waist-to-hip ratio on total cholesterol. *PLoS Genet.* 2011;7:e1002333.
 115. Turner SD, Berg RL, Linneman JG, Pessig PL, Crawford DC, Denny JC et al. Knowledge-driven multilocus analysis influencing HDL cholesterol levels in two independent EMR-linked biobanks. *PLoS One.* 2011;6:e19586.
 116. Min JL, Taylor HM, Richards JB, Watts T, Pettersson FH, Broxholme J et al. The use of genome-wide eQTL associations in lymphoblastoid cell lines to

- identify novel genetic pathways involved in complex traits. *PLoS One*. 2011;6:e22070.
117. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorf LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461:747-53.
118. Jarick I, Vogel CI, Scherag S, Schäfer H, Hebebrand J, Hinney A et al. Novel common copy number variation for early onset extreme obesity on chromosome 11q11 identified by a genome-wide analysis. *Hum Mol Genet*. 2011;20:840-52.
119. Bochukova EG, Huang Ni, Keogh J, Henning E, Purmann C, Blaszczak K et al. Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature*. 2010;463:666-70.
120. Glessner JT, Bradfield JP, Wang K, Takahashi N, Zhang H, Sleiman PM et al. A genomic-wide study reveals copy number variants exclusive to childhood obesity case. *Am J Hum Genet*. 2010; 12:661-6.
121. Walters RG, Jacquemont S, Valsesia A, de Smith AJ, Martinet D, Andersson J, et al. A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature*. 2010;463(728):671-5.
122. Wang K, Li WD, Glessner JT, Grant SF, Hakonarson H, Price RA. Large copy-number variations are enriched in cases with moderate to extreme obesity. *Diabetes*. 2010; 59(10):2690-4.
123. Conrad DF, Pinto D, Redon R, Feuk L, Gokcumen O, Zhang Y et al. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*. 2010;464:704-12.
124. McCarroll SA, Kuruwilla FG, Korn JM, Cawley S, Nemesh J, Wysoker A et al. Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation. *Nat Genet*. 2008 ;40:166-74.
125. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, Monda KL, Thorleifsson G, Jackson AU et al. Association analyses of 249,796 individuals reveals 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet*. 2010 ;42(110):937-48.
126. Heid IM, Jackson AU, Randall JC, Winkler TW, Qi L, Steinthorsdottir V et al. Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-lip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution. *Nat Genet*. 2010;42(110):949-60.

Recebido: 20/05/2012

Aceito: 30/09/2012