

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia
Mestrado e Doutorado

JAQUELINE DRIEMEYER CORREIA HORVATH

**Genética da Obesidade:
Polimorfismos do LEPR (rs1137101 e rs8179183), FTO (rs9939609)
e suas associações com transtorno alimentar e parâmetros
nutricionais em pacientes obesos**

Porto Alegre, 2017

JAQUELINE DRIEMEYER CORREIA HORVATH

**Genética da Obesidade:
Polimorfismos do LEPR (rs1137101 e rs8179183), FTO (rs9939609)
e suas associações com transtorno alimentar e parâmetros
nutricionais em pacientes obesos**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor em Endocrinologia à Universidade Federal
do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas Endocrinologia

Orientador: Prof^o Dr. Rogério Friedman

Porto Alegre, 2017.

Agradecimentos

Dedico esse trabalho ao meu esposo, **Nelson Horvath Junior**, a quem agradeço pelo imenso apoio, pelo amor, pela compreensão, por entender as noites em claro e os trabalhos aos fins de semana. Não tenho palavras para expressar tudo que fez e faz por mim, desde o singelo ato de me trazer “aquele café” enquanto estudo até ir a congressos e assistir apresentações que pouco lhe interessam. Tua presença é meu maior presente. Agradeço a **Isabelle Horvath**, minha filha, simplesmente por existir e fazer meus dias mais felizes.

Aos meus pais, **Marlene Driemeyer Correia e Paulo E. Peixoto Correia**, meus maiores incentivadores, minha sincera e eterna gratidão. Obrigada pelo amor, por compreenderem meus momentos de estudo e ausências, por me apoiarem incondicionalmente, em todas minhas escolhas. Vocês são à base de tudo. Ao meu irmão, **Guilherme Driemeyer Correia**, minha cunhada **Vanessa Monte da Rocha**, e ao meu afilhado **Arthur Rocha Correia** agradeço por dividirem a vida comigo. A minha avó **Nelda Driemeyer**, por ser uma segunda mãe, por me acordar todos os dias de manhã durante toda minha vida escolar, me levando pela mão ao colégio todos os dias, teu exemplo e teu amor permeiam minhas memórias desde a infância.

Ao meu orientador, professor **Dr. Rogério Friedman**, agradeço pela oportunidade oferecida e por acreditar no meu potencial. Agradeço especialmente pela paciência, pelos conselhos e pelo bom convívio desde a época da minha iniciação científica, ao longo desses 10 anos tenho muito a te agradecer, especialmente por permitir que eu faça parte de um grupo tão seleto de alunos. És um exemplo de professor, orientador e amigo, tenho por ti muita admiração e gratidão. Agradeço, também, às minhas colegas e amigas do grupo de pesquisa: **Mariana Laitano Dias de Castro** e **Natália Luíza Kops** pela alegre convivência, pelas risadas e sugestões. Especialmente por terem dividido comigo esse período, entre alegrias e angústias, as coletas de dados, as análises, extrações de DNA, vivências nos ambulatórios, formaturas, casamentos, filhos e mudanças... A vocês, muito obrigada!

Ao Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia da UFRGS e a todos que dele participam, pelos conhecimentos adquiridos e pela oportunidade. E a todos meus professores, embora não nomeados, que me brindaram com seus inestimáveis exemplos e conhecimentos em todas as etapas da minha vida, o caminho foi longo, mas sempre apaixonante. Aos meus professores, o meu reconhecido e meu carinhoso: muito obrigada!

Formato da tese

Esta tese de doutorado segue o formato do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sendo apresentada na forma de:

1. Artigo revisão 1 referente à revisão sistemática acerca do LEPr e obesidade.
2. Artigo original 2 referente ao trabalho de pesquisa abordando a associação dos polimorfismos do LEPr (rs1137101 e rs8179183) ao TCAP.
3. Artigo original 3 referente ao trabalho de pesquisa abordando o efeito aditivo dos polimorfismos do LEPr (rs113710 e rs8179183) e FTO (rs9939609) ao TCAP e padrões alimentares de obesos.

Lista de Tabelas e Figuras

Introdução

FIGURA 1. LOCALIZAÇÃO DE SNPS DE INTERESSE DO GENE DO LEPR.....	11
---	----

Capítulo I

FIGURA 1. DIAGRAMA DE SELEÇÃO DE ESTUDOS	22
FIGURA 2. NOMENCLATURA DO SNP GLN223ARG	29
TABELA 1. SUMÁRIO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO	23
TABELA 2 ASSOCIAÇÃO DOS SNPS DO LEPR COM OBESIDADE	25

Capítulo II

FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO GENE DE LEPR E A SUA ESTRUTURA PROTEICA.....	40
TABELA 1. FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E MODELOS DE HERANÇA CONFORME IMC	44
TABELA 2. FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E MODELOS DE HERANÇA CONFORME TCAP.....	45
FIGURE 1. SCHEMATIC REPRESENTATION OF THE LEPR GENE AND ITS PROTEIN STRUCTURE.....	63
TABLE 1. GENOTYPE FREQUENCIES AND INHERITANCE MODELS BY BMI.	63
TABLE 2. GENOTYPE FREQUENCIES AND MODELS OF INHERITANCE ACCORDING TO THE PRESENCE OF BED....	64

Capítulo III

TABELA 1. FREQUÊNCIAS DOS ALELOS	71
TABELA 2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS CONFORME PRESENÇA DO ALELO POLIMÓRFICO.	72
TABELA 3 – EFEITOS DOS SNPS SOBRE TCAP E CONSUMO DE ENERGIA DA DIETA.....	73
TABELA 4 – PADRÃO ALIMENTAR CONFORME PRESENÇA DO ALELO POLIMÓRFICO.....	74

Lista de abreviaturas

A1c%	Hemoglobina Glicada
ABESO	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica
AI	Ingestão Adequada - <i>Adequate Intake</i>
CA	Circunferência Abdominal
Cálcio T.	Cálcio Sérico Total
CB	Circunferência do Braço
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Col.T.	Colesterol Total
CQ	Circunferência do Quadril
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DP	Desvio Padrão
DRI	Referências de Consumo Diárias - <i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	Requerimento Médio Estimado - <i>Estimated Average Requirement</i>
ECLIA	Eletro-quimioluminescência
ECAP	Escala de compulsão alimentar periódica
FAMED	Faculdade de Medicina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTO	<i>Fat mass and obesity association</i>
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HDLc	Lipoproteína de alta densidade - <i>High Density Lipoproteins cholesterol</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de Massa Corporal
IAC	Índice de Adiposidade Corporal
LDLc	Lipoproteína de baixa densidade - <i>Low Density Lipoproteins cholesterol</i>
LEP	Leptina
LEPr	Receptor de Leptina
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde – <i>World Health Organization</i>
PCR	Proteína C Reativa
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
RDA	Recomendação Diária Permitida - <i>Recommended Dietary Allowance</i>
RDI	Ingestão Diária de Referência - <i>Reference Daily Intake</i>
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SCID	<i>Guide to the Structured Clinical Interview for DSM-IV Dissociative Disorders</i>
SNP	Polimorfismo de um único nucleotídeo
TAs	Transtornos Alimentares
TASOE	Transtorno Alimentar Sem Outra Especificação

TCAP	Transtorno de Compulsão Alimentar Periódica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicerídeos
TSH	Tireotrofina
UCS	Universidade de Caxias do Sul
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>

Sumário

INTRODUÇÃO	10
<i>Figura 1. Localização de SNPs de interesse do gene do LEPr</i>	<i>11</i>
REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO I.....	18
O RECEPTOR DA LEPTINA E SEU IMPACTO NA OBESIDADE: REVISÃO SISTEMÁTICA.....	18
RESUMO	19
INTRODUÇÃO.....	20
MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	21
<i>Figura 1 – Diagrama de Seleção de Estudos</i>	22
<i>Tabela 1. Sumário dos estudos incluídos na revisão</i>	23
<i>Tabela 2. Associação dos SNPs do LEPr com Obesidade</i>	25
DISCUSSÃO.....	28
<i>Figura 2 – Nomenclatura de SNPs do Gln223Arg</i>	29
CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO II.....	38
ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS DO LEPR (RS1137101 E RS8179183) AO TCAP	38
RESUMO	39
INTRODUÇÃO.....	40
<i>Figura 1. Representação esquemática do gene de LEPR e a sua estrutura proteica</i>	40
MÉTODOS.....	41
<i>Análise Antropométrica:</i>	<i>42</i>
<i>Análise Genética:</i>	<i>42</i>
<i>Análise Estatística:</i>	<i>42</i>
RESULTADOS.....	43
<i>Tabela 1. Frequências genotípicas e modelos de Herança conforme IMC</i>	44
<i>Tabela 2. Frequências genotípicas e modelos de Herança conforme TCAP</i>	45
DISCUSSÃO.....	46
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ASSOCIATIONS OF LEPR GENE POLYMORPHISMS AND THE PRESENCE OF BED IN SEVERELY OBESE SUBJECTS	52
ABSTRACT	52
INTRODUCTION	53
METHODS	54

RESULTS	55
DISCUSSION.....	56
CONCLUSION	58
REFERENCES	58
Table 1. Genotype frequencies and inheritance models by BMI.....	62
Table 2. Genotype frequencies and models of inheritance according to the presence of BED.	63
CAPÍTULO III.....	65
EFEITO SOMATÓRIO DOS POLIMORFISMOS DO LEPR (RS1137101 E RS8179183), FTO (RS9939609) A PADRÕES ALIMENTARES E TCAP EM OBESOS MÓRBIDOS.....	
RESUMO	65
INTRODUÇÃO.....	66
MÉTODOS.....	67
<i>Análise Nutricional:</i>	68
<i>Análise clínica e laboratorial:</i>	69
<i>Análise Genética:</i>	70
<i>Análise Estatística:</i>	70
RESULTADOS.....	71
Tabela 1. Frequências dos alelos	71
Tabela 2. Características Clínicas conforme presença do alelo polimórfico.....	72
Tabela 3 –Efeitos dos SNPs sobre TCAP e consumo de energia da dieta.	73
Tabela 4 – Padrão alimentar conforme presença do alelo polimórfico.	74
DISCUSSÃO.....	74
CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	79

Introdução

A epidemia global de obesidade tem gerado muito interesse pelos mecanismos predisponentes do excesso de peso e qual o impacto desses sobre a saúde da população. A obesidade é um distúrbio que resulta de uma combinação de fatores fisiológicos, genéticos e ambientais (1). Embora se saiba da forte influência ambiental, algumas pessoas ganham peso mais facilmente do que outras, indicando que essa variação no peso corporal é influenciada por fatores genéticos. Doenças complexas, como a obesidade, estão associadas a um número limitado de alelos predisponentes, cada um conferindo um acréscimo no risco para o indivíduo (2).

As estatísticas brasileiras mais atuais relativas à obesidade são oriundas da pesquisa Vigitel (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), que revela que 53,8% dos brasileiros estão acima do peso saudável e 18,9% são obesos (3). Esses dados são similares aos dados da pesquisa de orçamentos familiares, realizada pelo instituto de brasileiro de geografia e estatística (IBGE), que descreve que o excesso de peso foi diagnosticado em 50% dos homens e 48% das mulheres, sendo que 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres têm algum grau de obesidade (4).

O excesso de peso corporal contribui para a incidência de uma série de doenças. Cerca de 2,8 milhões de adultos morrem a cada ano como resultado de um elevado índice de massa corporal (IMC). Além disso, 44% da prevalência de diabetes, 23% da prevalência de doenças isquêmicas do coração e entre 7% e 41% de determinados tipos de câncer são atribuíveis ao sobrepeso e à obesidade (5).

A importância de uma melhor compreensão dos fatores genéticos que participam da gênese da obesidade e de qual forma eles poderiam ser modulados pela alimentação é justificada pela crescente prevalência dessa doença em todo o mundo, além de sua morbidade. Dentre os fatores genéticos, o estudo da leptina e suas vias de sinalização têm auxiliado na compreensão dos mecanismos de regulação do peso corporal e da homeostase energética. A leptina tem sido implicada na regulação de vários sistemas (6). Em relação ao balanço energético, atua principalmente no hipotálamo, no núcleo arqueado (ARC), e daí envia sua sinalização, para os neurônios orexígenos e anorexígenos presentes (7,8). Esse processo regulatório é extremamente eficaz, exemplos disso são a hiperfagia, posterior a um período de jejum, ou a recuperação do peso perdido, voluntariamente ou não, retornando ao peso inicial (9,10).

32 Os neurônios orexígenos secretam basicamente o neuropeptídeo Y (NPY) e a proteína
 33 relacionada agouti (AgRP) e os anorexígenos secretam o transcrito regulado por anfetamina e
 34 cocaína (CART) e o peptídeo de melanocortina (α -MSH) derivado do POMC
 35 (propiomelanocortina) (7,8). A leptina realiza essas funções através da ligação com seu
 36 receptor (LEPr). Vários polimorfismos comuns e variantes raras do gene LEPr humano têm
 37 sido relatadas. Potenciais associações desses polimorfismos com a obesidade foram avaliadas
 38 em diferentes populações (11,12). A forma mais comum de polimorfismo é a alteração de um
 39 único nucleotídeo (“polimorfismo em um único nucleotídeo” ou SNP), embora SNPs não sejam
 40 os únicos fatores de indução de doenças, eles podem determinar uma predisposição para
 41 perturbações metabólicas especiais (13).

42 Uma das primeiras descrições de um polimorfismo do receptor de leptina foi realizada
 43 logo após a descoberta da própria leptina, há mais de vinte anos (14). O sequenciamento
 44 completo do gene do LEPr foi realizado logo depois, em uma amostra de índios Pima obesos e
 45 eutróficos (15). Nesse estudo, foram identificados sete sítios polimórficos, sendo que dois
 46 destes polimorfismos, Lys109Arg e Gln223Arg, apresentaram substituições de aminoácidos no
 47 domínio extracelular do receptor de leptina (figura 1) (15).

48 **Figura 1. Localização de SNPs de interesse do gene do LEPr**

					G			
Exon 4	cDNA	ATT	GAA	GGA	AAG	ACA	TTT	GTT
	codon	106	107	108	109	110	111	112
	amino acid	Ile	Glu	Gly	Lys	Thr	Phe	Val
					Arg			
					G			
Exon 6	cDNA	GTA	ATT	TTC	CAG	TCA	CCT	CTA
	codon	220	221	222	223	224	225	226
	amino acid	Val	Ile	Phe	Gln	Ser	Pro	Leu
					Arg			

49
 50 Fonte: Hum Mol Genet. 1997 May;6(5):675-9. Structure and sequence variation at the human leptin
 51 receptor gene in lean and obese Pima Indians. Thompson DB1, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C.

52
 53 Nessas duas décadas, diversos SNPs da LEPr já foram identificados e descritos, mas
 54 três variantes são potencialmente funcionais, uma vez que se situam na região codificadora do
 55 receptor e por isso podem alterar a sinalização da leptina. São eles: Lys109Arg (A > G;
 56 rs1137100), Gln223Arg (A > G; rs1137101) e Lys656Asn (G > C; rs8179183 recentemente
 57 incorporado ao rs1805094) (16); os dois últimos possuem mudança de carga, o que os tornam
 58 mais prováveis de acarretar mudanças funcionais significativas. O achado de associação entre
 59 IMC (e outros fenótipos de obesidade) e alterações em genes da leptina e de seu receptor reforça
 60 essa teoria (17).

61 Outro gene importante quando se trata de genética de obesidade é o *Fat Mass and*
62 *Obesity Related* (FTO). O FTO foi o primeiro gene identificado através de GWAS (*genome-*
63 *wide association study*) sendo fortemente associado à obesidade em seres humanos (18,19). É
64 localizando no cromossomo 16 e trata-se de um gene grande, possuindo 9 éxons de 400 kb,
65 sendo seus principais SNPs localizados no primeiro íntron do gene; uma região fortemente
66 conservada entre as espécies. Eles representam um *cluster* de pelo menos 40 SNPs altamente
67 correlacionados (desequilíbrio de ligação $r^2 > 0,80$) em populações caucasianas (20).

68 O FTO (A > T; rs9939609) (21) é o SNP representativo de um conjunto de dez
69 polimorfismos localizados próximos e altamente correlacionados entre si ($r^2 = 0,52$ a $1,0$), além
70 de serem fortemente ligados a indicadores antropométricos, especialmente IMC. O alelo A é o
71 alelo de risco, sendo associado a um efeito médio por alelo no IMC de $0,36 \text{ kg/m}^2$ (22,23).
72 Diversas evidências ao longo dos 10 anos desde a sua descoberta, mostraram que o FTO
73 desempenha um papel fundamental na regulação do desenvolvimento do tecido adiposo e
74 funções no tamanho e composição do corpo (24).

75 No entanto, embora muitos estudos analisaram o papel das variantes FTO no
76 metabolismo e sua associação com variáveis antropométricas, apenas alguns exploraram a
77 associação entre as variantes FTO e a regulação de vias neuronais (25). Estudos experimentais
78 indicam que o mRNA de FTO é altamente expresso em áreas cerebrais importantes para a
79 regulação do consumo de energia e do sistema de recompensa (26). Sendo o FTO previamente
80 associado ao controle do apetite (27); a variante rs9939609 já foi associada ao controle de
81 saciedade (28).

82 No hipotálamo, o FTO pode catalisar a retirada do radical metil (CH₃) (demetilação dos
83 ácidos nucléicos), promovendo uma maior expressão de RNAm e, assim, regular a transcrição
84 de genes envolvidos no metabolismo (29). Além disso, Qi e colaboradores sugeriram que o
85 FTO faz parte de uma via que medeia a neuro-regulação da ingestão de alimentos, com o
86 bloqueio do sinal de leptina (30).

87 Parece haver uma relação consistente entre FTO e leptina. Níveis séricos de leptina já
88 foram associados a variantes do gene FTO (31-33). Mais recentemente, Stratigopoulos e
89 colaboradores mostraram que FTO regulava a translocação do LEPr para membrana basal e
90 posteriormente modulava a resposta celular à leptina. (34). Assim, a relação entre FTO/LEPr
91 precisa ser amplamente investigada, bem como as associações desses genes com o controle
92 alimentar. Hipoteticamente, um distúrbio nesses genes associados ao controle alimentar no

93 hipotálamo, poderia estar associado a transtornos alimentares, como o transtorno de compulsão
94 alimentar periódica (TCAP).

95 O TCAP caracteriza-se pela ingestão de grande quantidade de comida em até duas horas,
96 acompanhada da sensação de perda de controle sobre o que ou o quanto se come. Os episódios
97 ocorrem pelo menos uma vez por semana, por pelo menos três meses, associados a algumas
98 características de perda de controle e acentuado sofrimento devido à compulsão. Além disso,
99 não são acompanhados de comportamentos compensatórios dirigidos para a perda de peso. Os
100 episódios de compulsão alimentar estão associados com três (ou mais) das seguintes
101 características:

- 102 1. Comer muito mais rapidamente do que o normal.
- 103 2. Comer até sentir-se desconfortavelmente cheio.
- 104 3. Comer grandes quantidades de comida quando não se sentir fisicamente com fome.
- 105 4. Comer sozinho, por se sentir envergonhado por quanto se está comendo.
- 106 5. Sentimento de nojo consigo mesmo, deprimido ou muito culpado após compulsão
107 (35).

108 O TCAP é mais prevalente em obesos do que na população em geral. No Brasil, a
109 prevalência de TCAP para a população varia de 5% a 8,5%, nos estudos mais recentes que
110 realizaram essa avaliação (36,37). Já os estudos que estimam a prevalência do TCAP em
111 obesos, observam valores variando de 15 a 50% deste TA, em suas amostras (38,39). Após a
112 alteração dos critérios do DSM IV para o DSM V, essas prevalências podem ser, ainda,
113 superiores (40).

114 Não obstante a conexão hipoteticamente relevante entre TCAP e genética não apresenta,
115 até o presente momento, nenhum dado. Uma melhor compreensão dessas associações poderia
116 contribuir para elucidar a gênese da obesidade mórbida, bem como propor formas de identificar
117 esses pacientes.

118 Assim, o objetivo dessa tese de doutorado é estudar as associações entre polimorfismos
119 de interesse e o transtorno de compulsão alimentar periódica em pacientes obesos. Para tanto,
120 realizou-se uma revisão sistemática para analisar quais os principais polimorfismos do receptor
121 de leptina que poderiam estar envolvidos na obesidade (Artigo 1). Após, realizou-se um estudo
122 de associação desses SNPs com o transtorno de compulsão alimentar periódica (artigo 2).
123 Ainda, aprofundou-se o estudo dessa associação, incluindo-se o polimorfismo do gene do FTO,
124 e identificando associações com consumo alimentar que poderiam explicar melhor o TCAP
125 (artigo 3).

- 127 1.Skolnik NS, Ryan DH. Pathophysiology, epidemiology, and assessment of obesity in adults.
128 J Fam Pract. 2014 Jul;63(7):S3-S10.
- 129 2.Farooqi IS. Defining the neural basis of appetite and obesity: from genes to behaviour. Clin
130 Med. 2014 Jun;14(3):286-9
- 131 3.Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por
132 inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília:
133 Ministério da Saúde, 2017.
- 134 4.IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa de
135 Orçamentos Familiares. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos
136 no Brasil. 2008-2009.
- 137 5.WHO/FAO. Obesity and overweight. Fact sheets. Atualizado em Maio de 2017. Disponível
138 em: <http://www.who.int/mediacentre/en/> Acesso em Maio de 2017.
- 139 6.Park H-K, Ahima RS, Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and
140 metabolism. Metabolism. 2015 Jan;64(1):24-34
- 141 7.Allison MB, Myers MG Jr. 20 years of leptin: connecting leptin signaling to biological
142 function. J Endocrinol. 2014 Oct;223(1):T25-35.
- 143 8.Rosenbaum M, Leibel RL. 20 years of leptin: role of leptin in energy homeostasis in humans.
144 J Endocrinol. 2014 Oct;223(1):T83-96.
- 145 9.Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system
146 control of food intake and body weight. Nature. 2006 Sep 21;443(7109):289-95.
- 147 10.Münzberg H, Morrison CD. Structure, production and signaling of leptin. Metabolism. 2015
148 Jan;64(1):13-23.
- 149 11.Tabassum R, Mahendran Y, Dwivedi OP, Chauhan G, Ghosh S, Marwaha RK, et al.
150 Common variants of IL6, LEPR, and PBEF1 are associated with obesity in Indian children.
151 Diabetes. 2012; 61(3):626–31.
- 152 12.Lu J, Zou D, Zheng L, Chen G, Lu J, Feng Z. Synergistic effect of LEP and LEPR gene
153 polymorphism on body mass index in a Chinese population. Obes Res Clin Pract.
154 2013;7(6):e445–9.
- 155 13.Costa V, Casamassimi A, Ciccodicola A. Nutritional genomics era: opportunities toward a
156 genome-tailored nutritional regimen. J Nutr Biochem. 2010;21(6):457–67.
- 157 14.Chua SC Jr, White DW, Wu-Peng XS, Liu SM, Okada N, Kershaw EE, Chung WK, Power-
158 Kehoe L, Chua M, Tartaglia LA, Leibel RL. Phenotype of fatty due to Gln269Pro mutation in
159 the leptin receptor (Lepr). Diabetes. 1996 Aug;45(8):1141-3.
- 160 15.Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C. Structure and sequence variation at

- 161 the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet.* 1997
162 May;6(5):675-9.
- 163 16. National Center for Biotechnology Information. Catalog of nucleotide changes for human
164 and other model organisms. Disponível em:
165 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1137101;
166 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1137100;
167 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1805094; Acesso em fevereiro de
168 2016.
- 169 17. Mars M, van Rossum CTM, de Graaf C, Hoebee B, De Groot LCPGM, Kok FJ. Leptin
170 responsiveness to energy restriction: genetic variation in the leptin receptor gene. *Obes Res*
171 [Internet]. 2004;12(3):442–4.
- 172 18. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JRB,
173 Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ,
174 Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin
175 MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJF, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F,
176 Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CNA, Doney ASF, Morris AD, Smith
177 GD, The Wellcome Trust Case Control Consortium, Hattersley AT, McCarthy MI. A common
178 variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and
179 adult obesity. *Science* 2007; 316: 889–894.
- 180 19. Scuteri A, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are
181 associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.* 2007 Jul; 3(7):e115.
- 182 20. Loos RJ, Bouchard C. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity.
183 *Obes Rev.* 2008 May;9(3):246-50.
- 184 21. National Center for Biotechnology Information. Catalog of nucleotide changes for human
185 and other model organisms. Disponível em:
186 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=9939609 Acesso em fevereiro de
187 2017
- 188 22. Speakman JR. The 'Fat Mass and Obesity Related' (FTO) gene: Mechanisms of Impact on
189 Obesity and Energy Balance. *e Curr Obes Rep.* 2015 Mar;4(1):73-91.
- 190 23. Ruth J.F. Loos, Giles S.H. Yeo. The bigger picture of FTO – the first GWAS-identified
191 obesity gene. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Jan; 10(1): 51–61
- 192 24. Yang Q, Xiao T, Guo J, Su Z. Complex Relationship between Obesity and the Fat Mass
193 and Obesity Locus. *Int J Biol Sci.* 2017 May 15;13(5):615-629
- 194 25. Giovanni Castellini, Marica Franzago, Silvia Bagnoli, Lorenzo Lelli, Michela Balsamo,
195 Milena Mancini, Benedetta Nacmias, Valdo Ricca, Sandro Sorbi, Ivana Antonucci, Liborio
196 Stuppia, and Giovanni Stanghellini. Fat mass and obesity-associated gene (FTO) is associated
197 to eating disorders susceptibility and moderates the expression of psychopathological traits.
198 *PLoS One.* 2017; 12(3): e0173560.
- 199 26. Marian Tanofsky-Kraff, Joan C Han, Kavitha Anandalingam, Lauren B Shomaker, Kelli M

- 200 Columbo, Laura E Wolkoff, Merel Kozlosky, Camden Elliott, Lisa M Ranzenhofer, Caroline
201 A Roza, Susan Z Yanovski, and Jack A Yanovski. The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele
202 and loss of control over eating. *Am J Clin Nutr.* 2009 Dec; 90(6): 1483–1488.
- 203 27. Tao H, Qibin Q, Yanping L, Hu FB, Bray GA, Sacks FM, et al. FTO genotype, dietary
204 protein, and change in appetite: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies trial.
205 *American Journal of Clinical Nutrition.* 2014; 99: 1126-30.
- 206 29. Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Farooqi IS, O’Rahilly S, Plomin R. Obesity associated
207 genetic variation in FTO is associated with diminished satiety. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;
208 93:3640–3643.
- 209 29. Gerken T, Girard CA, Tung YL, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, et al. The obesity-
210 associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*
211 2007;318 (5855):1469-1472.
- 212 30. Qi L, Kang K, Zhang C, et al. Fat mass-and obesity-associated (FTO) gene variant is
213 associated with obesity: longitudinal analyses in two cohort studies and functional test. *Diabetes*
214 2008;57:3145–51.
- 215 31. Church C, Moir L, McMurray F, Girard C, Banks GT, Teboul L, Wells S, Brüning JC,
216 Nolan PM, Ashcroft FM, Cox RD.. Overexpression of FTO leads to increased food intake and
217 results in obesity. *Nat Genet.* 2010;42:1086–92.
- 218 32. Do R, Bailey SD, Desbiens K, Belisle A, Montpetit A, Bouchard C, Pérusse L, Vohl MC,
219 Engert JC. Genetic variants of FTO influence adiposity, insulin sensitivity, leptin levels, and
220 resting metabolic rate in the Quebec Family Study. *Diabetes.* 2008;57:1147–50.
- 221 33. Labayen I, Ruiz JR, Ortega FB, Dallongeville J, Jiménez-Pavón D, Castillo MJ, De Henauw
222 S, González-Gross M, Bueno G, Molnar D, Kafatos A, Díaz LE, Meirhaeghe A, Moreno LA.
223 Association between the FTO rs9939609 polymorphism and leptin in European adolescents: a
224 possible link with energy balance control. The HELENA study. *Int J Obes (Lond).* 2011
225 Jan;35(1):66-71.
- 226 34. Stratigopoulos G, LeDuc CA, Cremona ML, Chung WK, Leibel RL. Cut-like homeobox 1
227 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa
228 GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIPL) genes and coordinates leptin receptor
229 signaling. *J Biol Chem.* 2011;2011;286:2155–7.
- 230 35. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5th.
231 In: 2 ed. 2013. p. 970.
- 232 36. Mascarenhas MTL, de Almeida MMG, Araújo TM De, Prisco APK. Transtornos
233 alimentares na população de 20 a 59 anos de Feira de Santana (BA), 2007. *Cad Saúde Colet.*
234 2011;19(2):179–86.
- 235 37. Prisco APK, de Araujo TM, de Almeida MMG, Santos KOB. [Prevalence of eating disorders
236 in urban workers in a city of the northeast of Brazil]. *Prevalencia transtornos Aliment em Trab*
237 *urbanos Munic do Nord do Bras [Internet].* 2013;18(4):1109–18.

- 238 38.Horvath JDC, Kops NL, Dias de Castro ML, Friedman R. Eating Behaviors Food
239 consumption in patients referred for bariatric surgery with and without binge eating disorder .
240 2015;19:10–3.
- 241 39.Mitchell JE, King WC, Courcoulas A, Dakin G, Elder K, Engel S, et al. Eating behavior and
242 eating disorders in adults before bariatric surgery. *Int J Eat Disord* [Internet]. 2015;48(2):215–
243 22.
- 244 40.Marek RJ, Ben-Porath YS, Ashton K, Heinberg LJ. Impact of using DSM-5 criteria for
245 diagnosing binge eating disorder in bariatric surgery candidates: Change in prevalence rate,
246 demographic characteristics, and scores on the minnesota multiphasic personality inventory - 2
247 restructured form (MMPI-2-RF). *Int J Eat Disord* [Internet]. 2014;47(5):553–7.

Capítulo I

O Receptor da Leptina e seu impacto na Obesidade: Revisão Sistemática

Jaqueline Driemeyer Correia Horvath ^{1,2,3}

Mariana Laitano Dias de Castro Heredia^{1,3}

Rogério Friedman ^{1,3,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia-UFRGS

² Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – Graduação em Nutrição - UCS

³ Serviço de Endocrinologia – Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA

⁴ Departamento de Medicina Interna – FAMED-UFRGS

Endereço para correspondência:

Jaqueline Driemeyer Correia Horvath

Universidade de Caxias do Sul

Centro de Ciências da Saúde - Graduação Nutrição

Campus Sede: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 - CEP 95070-560 - Caxias do Sul

Fone: (+5554) 3218-2100

Cel: (+5551) 94159474

Email: nut.jaquelinehorvath@gmail.com

Resumo

21

22 A frequência de obesidade continua aumentando a cada ano, fato grave, devido à
23 associação dessa doença a diversas comorbidades. Fatores genéticos desempenham um papel
24 importante na etiologia da obesidade, especialmente em relação às variantes do receptor de
25 leptina. O LEPr se encontra em uma das principais vias de sinalização do caminho biológico
26 relacionado à obesidade; no entanto, essa associação ainda apresenta resultados contraditórios,
27 em diferentes populações. Assim, devido à falta de uma evidência definitiva em relação ao
28 papel do LEPr na obesidade em humanos e sobre quais os principais SNPs envolvidos nessa
29 relação, propõe-se essa revisão, que tem como objetivo elucidar a associação dos polimorfismos
30 do receptor da leptina à obesidade, em pacientes com excesso de peso ou obesos. Métodos: A
31 revisão foi realizada seguindo os critérios do PRISMA, abrangendo os artigos publicados até
32 outubro de 2016 nas bases de dados *Pubmed*, *Science Direct* e *Google Scholar*, utilizando-se
33 os seguintes unitermos: OBR, CD295, LEPr ou *leptin receptor* e *morbid obesity* ou *morbidly*
34 *obese*. Resultados: Foram encontrados 201 artigos, sendo realizada uma primeira revisão de
35 títulos e resumos; após consenso, foram selecionados, na triagem, 59 artigos das bases de dados,
36 tendo todos esses suas referências analisadas. Uma nova triagem, a partir das referências,
37 identificou outras 59 publicações, de onde foram selecionados 29 artigos adicionais. Portanto,
38 um total de 88 artigos foram incluídos para a segunda revisão (elegibilidade), onde foram
39 excluídos, após consenso, 61 publicações. Foram incluídos 27 estudos, totalizando uma amostra
40 de 6.710 pacientes obesos ou com sobrepeso analisados. Essa amostra é composta por
41 indivíduos de ambos os sexos, de diversas nacionalidades (ingleses, japoneses, belgas,
42 brasileiros, espanhóis, taiwaneses, turcos, tunisianos, holandeses, mexicanos, tchecos,
43 americanos, romenos, poloneses, gregos) e etnias (caucasianos, latinos, asiáticos, aborígenes),
44 com idades variando de 12 a 80 anos. Os SNPs mais citados são Gln223Arg (rs1137101),
45 Lys109Arg (rs1137100), Lys656Asn (rs8179183) e Pro1019Pro (rs1805096), respectivamente.
46 Muitos estudos epidemiológicos e clínicos foram realizados para investigar a associação entre
47 polimorfismos do gene LEPr e obesidade, em geral, demonstrando a limitada influência do
48 gene. Embora não possamos demonstrar evidências robustas para a associação desse gene à
49 obesidade, acreditamos que essas variantes possam ter uma associação com fenótipos
50 intermediários, sendo, portanto, fatores importantes para serem avaliados em pacientes de risco.

Introdução

No mundo todo, o excesso de peso aumenta de forma exponencial. A proporção de adultos com um índice de massa corporal (IMC) de 25 kg/m² ou superior aumentou entre 1980 e 2013 de 28,8% para 36, 9% nos homens, e de 29,8% a 38,0%, em mulheres (1). O mesmo cenário pode ser observado quando se trata de obesidade mórbida, caracterizada por um IMC \geq 40 kg/m², que também apresentou um aumento na sua prevalência, nos últimos 30 anos (2). A obesidade está associada com muitas doenças crônicas graves, como diabetes tipo 2 (DM2), hipercolesterolemia, hipertensão ou doenças cardíacas, e está diretamente relacionada ao aumento da mortalidade e a uma expectativa de vida reduzida (3).

Especula-se que a principal causa desta epidemia seja um ambiente "obesogênico", que engloba uma alta ingestão de calorias provenientes particularmente de açúcares e gordura (4). Somado a isso, acredita-se que fatores genéticos desempenham um papel importante na etiologia da obesidade. Com base em estudos individuais e em amostras de famílias, a variação do índice de massa corporal atribuível ao fator genético pode impactar em 40% a 70% no valor do IMC (5,6).

Um gene comumente estudado quando se trata de obesidade é o gene do receptor de leptina (LEPr), pois ele estaria em uma das principais vias de sinalização do caminho biológico relacionado à obesidade. O estudo da sinalização da leptina, que exerce o seu efeito fisiológico através da ligação ao LEPr, ainda apresenta resultados contraditórios, em diferentes populações, quando associado à obesidade (7 - 13).

O LEPr é uma proteína transmembrana que pertence à classe I da família de receptores de citocinas. É expresso, principalmente, no sistema nervoso central, mas também é encontrado em outros órgãos (14). A ligação da leptina em seu receptor ativa o transdutor de sinal e o ativador de transcrição-3 (STAT3), inclusive em neurónios dopaminérgicos que são essenciais para o controle do comportamento relativo ao sistema de recompensa alimentar (15).

Assim, devido à falta de uma evidência definitiva em relação ao papel do LEPr na obesidade em humanos, bem como quais seriam os principais SNPs envolvidos nessa relação, propõe-se essa revisão, que tem o objetivo de elucidar a associação dos polimorfismos do receptor da leptina à obesidade, em pacientes com excesso de peso ou obesos.

Métodos

A revisão foi realizada abrangendo os artigos publicados até outubro de 2016 nas bases de dados *Pubmed*, *Science Direct* e *Google Scholar*, utilizando-se os seguintes unitermos: *OBR*,

83 *CD295, LEPR* ou *leptin receptor* e *morbid obesity* ou *morbidly obese*, seguindo os critérios do
84 PRISMA (16).

85 Foram incluídos estudos de acordo com os seguintes critérios: estudos realizados em
86 humanos, avaliando SNPs do receptor de leptina com desfecho relacionado a marcadores de
87 obesidade (Índice de adiposidade corporal, peso, densitometria óssea, circunferência da cintura,
88 entre outros), sendo incluídos somente estudos de associação realizados com pacientes com
89 excesso de peso ou obesos. Foram excluídos os estudos experimentais em modelo animal ou *in*
90 *vitro*, que não tinham o desfecho de interesse ou que não analisavam o receptor de leptina, que
91 analisavam associações de SNPs de genes diferentes, aqueles que avaliavam mutações raras ou
92 estudos de base familiar. Também não foram incluídos estudos publicados em idiomas
93 diferentes do inglês, português ou espanhol.

94 Todos os estudos selecionados após a triagem foram lidos na íntegra e, novamente,
95 revistos os critérios de inclusão e exclusão. A revisão foi conduzida por dois revisores
96 independentes e o consenso era alcançado por discussão. As listas de referências de todos os
97 estudos selecionados na primeira triagem foram examinadas para identificar estudos não
98 encontrados através da busca nas bases de dados. As referências selecionadas foram verificadas
99 por título e resumo para a triagem, e incluídas caso preenchessem todos os critérios de inclusão.

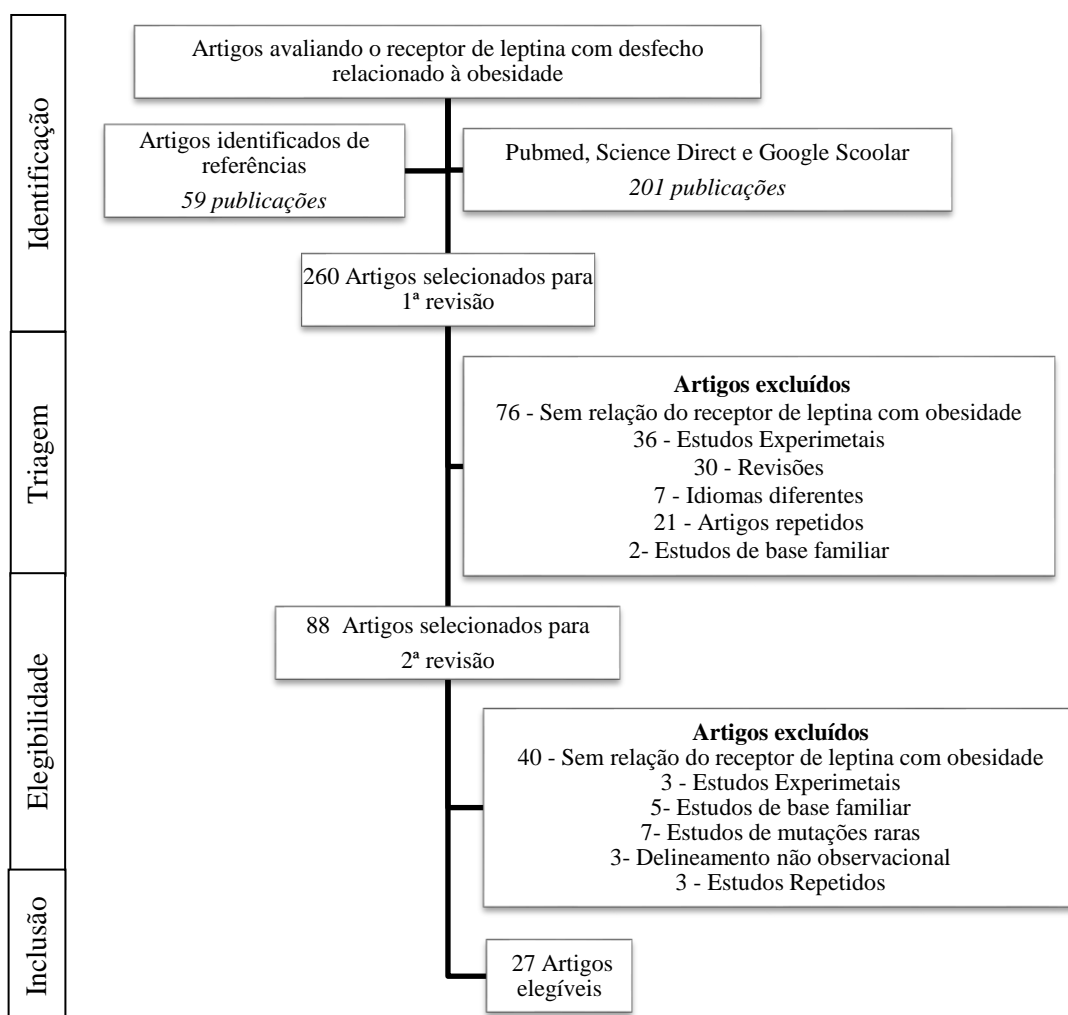
100

101

Resultados

102 Foram encontrados 201 artigos, sendo realizada uma primeira revisão de títulos e
103 resumos; após consenso, foram selecionados 59 artigos das bases de dados, tendo todos esses
104 suas referências analisadas. Uma nova triagem, a partir das referências, identificou outras 59
105 publicações; destas, foram selecionados 29 artigos adicionais. Portanto, um total de 88 artigos
106 foram incluídos para a segunda revisão (elegibilidade), onde foram excluídos, após consenso,
107 61 publicações. A figura 1 detalha o fluxo de seleção de estudos.

Figura 1 – Diagrama de Seleção de Estudos

109
110

111 A partir da seleção, foram incluídos 27 estudos (17 - 44), totalizando uma amostra de
 112 6.710 pacientes obesos ou com sobrepeso analisados. Essa amostra é composta por indivíduos
 113 de ambos os sexos, de diversas nacionalidades (ingleses, japoneses, belgas, brasileiros,
 114 espanhóis, taiwaneses, turcos, tunisianos, holandeses, mexicanos, tchecos, americanos,
 115 romenos, poloneses, gregos) e etnias (caucasianos, latinos, asiáticos, aborígenes) com uma
 116 idade variando de 12 a 80 anos. Um sumário dos estudos incluídos nessa revisão encontra-se
 117 na tabela 1.

118 Acerca da associação dos SNPs do LEPr à obesidade: dos 27 artigos incluídos, 14 não
 119 referem associações entre qualquer SNP avaliado e parâmetros associados à obesidade entre
 120 pacientes com sobrepeso/obesos e controles (eutróficos); 13 apresentam alguma associação. A
 121 tabela 2 detalha os estudos incluídos.

Tabela 1. Sumário dos estudos incluídos na revisão

Autor/ano	Delineamento	População/Etnia	Amostra/n	Gênero¹ (M/F)	Idade¹ (Anos)	IMC¹ (Kg/m²)
Gotoda/1997 (17)	Caso-Controle	Inglêses/ Caucasianos	190 Obesos/ 132 controles	♂	40 - 64	Obesos > 28 Magros < 22
Matsuoka/1997 (18)	Caso-Controle	Japoneses	47 Obesos 68 Controles	♂ ♀	41,9±16,6	35,1±6,5
Quinton/2001 (19)	Transversal	Inglêses/ Caucasianos	220	♀ Pós menopausa	67, 7± 0,5	26,9±0,3
Yiannakouris/ 2001 (20)	Transversal	Gregos/ Mediterrâneos	120	♂ 56 ♀ 62	17,7± 1,7	> 25
Wauters/2001 (21)	Transversal	Belgas/ Caucasianos	280 mulheres sobrepeso e obesidade	♀	18 - 60	> 25
Mattevi/2002 (22)	Transversal	Brasileiros/ Caucasianos	336 Estratificado pelo IMC	♂ 153 ♀ 183	ND	>25
van Rossum, 2002 (23)	Transversal	Holandeses/ Caucasianos duas Coortes(6-8 anos)	286 aumento de peso 296 controles	♂ 134 ♀ 152	20 - 40	> 1,4 Kg/ anos
Guízar- Mendoza, 2005 (24)	Caso-controle	Mexicanos	55 obesos 48 controles	♂ 35 ♀ 20	12 -17	> Percentil 95
Portolés, 2006 (25)	Caso-Controle	Espanhóis/ Mediterrâneos	303 Obesos 606 Controles	♂ 101 ♀ 202	18 -70	> 30
Wang, 2006 (26)	Caso-Controle	Aborígenes / Taiwaneses	226 obesos 182 controles	♂ 75 ♀ 151	59,1±12,9	> 27
Duarte, 2007 (27)	Caso-Controle	Brasileiros/Etnias Diversas	200 Obesos 150 ontroles	♂ 60 ♀ 140	18 - 71	> 30
Mergen, 2007 (28)	Caso-Controle	Turcos	262 Obesos 138 controles	♂ 103 ♀ 159	42,8±12,9	39,0±0,35
Bienertova- Vasku, 2008 (29)	Caso- Controle	Tchecos/ Caucasianos	125 obesos/ 60 controles	♂ 36 ♀ 89	20- 70	> 30
Ben Ali, 2009 (30)	Caso-Controle	Tunisianos/ Árabes	391 Obesos/ 302 Controles	♂ 175 ♀ 216	43.6±12.2	39,6 ± 6,7
De Luis, 2009 (31)	Transversal	Espanhóis	41 PB	♂ 9 ♀ 32	42,8±12,9	46,8± 6,3 ²
Marti, 2009 (32)	Caso-Controle	Espanhóis	159 obesos 154 controles	♂ 20 ♀ 139	42,4±10,5	> 30
Pyrzak, 2009 (33)	Caso-Controle	Poloneses	101 Obesos 44 controle	♂ 43 ♀ 58	12 - 18	31,41±5,03
Bienertova- Vasku, 2010 (34)	Caso-Controle	Tchecos/ Caucasianos	64 obesos/ 64 controles	♂ 13 ♀ 51	18 - 73	> 40
Constantin, 2010 (35)	Transversal	Romenos	108 obesos	♂ 30 ♀ 78	51 ± 7	37.3 ± 5.7
Furusawa, 2010 (36)	Transversal	Ilhas do Pacífico/ Melanésia, Polinésia, Micronésia	745	ND	ND	> 30
Sarzynshi 2011 (37)	Coorte	Caucasianos – 10 anos de seguimento	1443 PB	♂ e ♀	37 - 60	♂ > 34 ♀ > 38

Tabela 1- Continuação

Autor/ano	Delineamento	População/Etnia	Amostra/n	Gênero ¹ (M/F)	Idade ¹ (Anos)	IMC ¹ (Kg/m ²)
Boumaiza 2012 (38)	Caso-controle	Tunisianos	160 obesos 169 controles	ND	47,9±11,2	> 30
Komşu-Örnek, 2012 (39)	Caso-controle	Turcos	92 obesos 99 controles	♂ 44 ♀ 48	11,3 ± 0,3	28,8 ± 0,5
Carpenter, 2013 (40)	Transversal	Americanos	80 obesos	♂ 21 ♀ 59	53,3±15,5	43,3 ± 12,5
Oliveira, 2013 (41)	Caso-Controle	Brasileiros/ Caucasianos	148 obesos 178 controles	♂ 29 ♀ 119	30- 80	34,8 ± 4,8
Luperini, 2015 (42)	Caso-Controle	Brasileiros/ Caucasianos	300 obesos 300 controles	♀	33,4±6,51	45,69± 5,8
Chavarria-Avila, 2015 (43)	Caso-Controle	Mexicanos/ Mestiços	228 Obesos 154 controles	♂ 82 e ♀ 146	18 – 68	> 25

¹.Dados relativos a amostra de pacientes com sobrepeso/obesidade. ².IMC pré-operatório (caso estudo fosse de pacientes bariátricos). ND: Não descrito no artigo original; PB: Pós Cirurgia Bariátrica.

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

Gotoda e colaboradores observaram que a variante Lys/Lys do Lys656Asn estaria associada a um menor IMC em indivíduos com peso normal (17). Já Guízar-Mendoza e colaboradores referem que na avaliação entre os genótipos de indivíduos obesos houve diferenças no percentual de gordura corporal, sendo esses percentuais maiores no genótipo Gln223Gln (AA) $p=0,02$ (24). O achado de Ben Ali e colaboradores foi similar: um maior IMC foi observado em homens portadores do genótipo Gln223Gln (AA) $p=0,007$ (30).

Outros estudos não observaram diferenças nas frequências alélicas e genotípicas dos SNPs entre obesos e eutróficos, mas demonstraram associações entre variantes dos SNPs e outros fatores que podem se associar à obesidade, como baixo nível de leptina no plasma (29,30), maior consumo alimentar à noite (34), maior glicemia e alterações lipídicas (35) (tabela 2). Ainda, a variante polimórfica Arg223Arg (GG) apresenta um possível envolvimento desse polimorfismo na regulação da ritmicidade circadiana (34).

Os SPNs de mais estudados são Gln223Arg (rs1137101), Lys109Arg (rs1137100), Lys656Asn (rs8179183) e Pro1019Pro (rs1805096). O SNP Gln223Arg é analisado em 24 artigos, seguido do Lys109Arg, estudado em nove publicações, e Lys656Asn, analisado em oito estudos; Pro1019Pro (rs1805096) foi avaliado em quatro publicações. Apenas dois estudos avaliaram o SNP Ser343Ser (17,32) e um estudo avaliou uma variante em um íntron rs9436740 (37).

Tabela 2. Associação dos SNPs do LEPr com Obesidade

Autor/ano	SNPs	FA ou FG – variante polimórfica (%)	P¹ - Resultados principais
Gotoda/1997 (17)	Lys109Arg Gln223Arg Ser343Ser Lys656Asn Pro1019Pro	FA: 27%, 44%, 18%, 18%, 38%, respectivamente.	NS - No Lys656Asn a presença do alelo selvagem em homozigose (Lys/Lys) está associada a um menor IMC somente em indivíduos magros (p= 0,017).
Matsuoka/1997 (18)	Lys109Arg Gln223Arg Pro1019Pro Lys656Asn	FA: 82%, 87%, 88%, 10%, respectivamente.	NS
Quinton/2001 (19)	Gln223Arg	FA: 40%	P=0,007 - Alelo A (AA ou AG – selvagem/ Gln223) era associado a um maior IMC.
Yiannakouris/2001 (20)	Lys109Arg Gln223Arg Lys656Asn	FA: 15,5% 37,9% e 25,9% respectivamente.	223Arg (GG) associado ao sobrepeso. P=0,02 (Modelo Co-Dominante) Maior prevalência de homozigotos GG entre os indivíduos com sobrepeso/obesos, sendo mais provável o padrão de herança recessivo p=0,01. Além disso, o polimorfismo Gln223Arg foi um preditor significativo de 5% da variabilidade da composição corporal.
Wauters/2001 (21)	Lys109Arg Gln223Arg Lys656Asn	FA: 28%, 48%, 18% respectivamente.	Lys656Lys associado com menor CQ (p=0,03) e Gln223(AA) associado com maior GA.(p=0,04). Após a menopausa as associações eram mais significativas, Gln223 (AA) parece ter em média 64cm ² mais gordura abdominal do que 223Arg .p=0,03.
Mattevi/2002 (22)	Gln223Arg Pro1019Pro	FA: 45% e 37% respectivamente.	P<0.013 (diferença genotípica) e p=0,009 (diferença alélica). Entre genótipos, há uma tendência de um IMC maior encontrado no 223Arg.
Rossum/2002 (23)	Lys109Arg Gln223Arg Lys656Asn	ND	NS - Referem diferenças entre Gln223Arg nas mulheres, mas não há significância estatística. Frequência alélica não é descrita, apenas a genotípica separada por gênero.
Guízar-Mendoza/2005 (24)	Gln223Arg Pro1019Pro	FA: 33% e 69%, respectivamente.	NS - Não houve diferenças analisando pacientes obesos Vs pacientes não obesos. Quando foram avaliadas as diferenças entre os genótipos de obesos foi observado maior percentual de gordura no genótipo Gln223Gln ou AA (selvagem) p=0,02.
Portolés/2006 (25)	Gln223Arg	AG: 45% GG: 8,9 % FA: 31%	P: 0,047 OR = 0,62; IC 95%: 0,39-0,99. Gln223 (AA) foi associado com a obesidade em um modelo recessivo (0,047). A associação entre Gln223 e obesidade permaneceu significativa mesmo após o ajuste adicional para a educação, tabagismo, consumo de álcool, atividade física e origem do paciente obeso.

Tabela 2. Continuação

Wang/2006 (26)	Gln223Arg	AG 16,7 % obesos graves e moderados e AG 19,1% obesos moderados	NS - A amostra de pacientes com IMC acima de 35 era pequena, apenas 30 pacientes. Na amostra praticamente não havia pacientes com o genótipo GG (apenas 1 indivíduo).
Duarte/2007 (27)	Gln223Arg	AG: 50% GG: 14%	P= 0,05 (Modelo Co-Dominante) p= 0,03 (modelo dominante). NS Modelo recessivo. 73% dos pacientes obesos tinham os genótipos AG/GG (Modelo dominante). Combinação dos haplótipos <i>LEP</i> c.-2548G>A e <i>LEPR</i> p.Q223R aumenta 58% o risco de Obesidade.
Mergen/2007 (28)	Gln223Arg	AG: 62% GG: 38%	P<0,05. No grupo de obesos a frequência do alelo mutante 223Arg (GG) é maior. Há diferença no equilíbrio de Hardy Weinberg.
Bienertova-Vasku/2008 (29)	Gln223Arg	AG: 53,6% GG: 19,2%	NS - 223Arg (G) era associado a baixos níveis de leptina sérica em obesos.
Ben Ali/2009 (30)	Gln223Arg	AG: 50,6% GG: 15,3%	NS - Não houve diferenças significativas nas frequências do polimorfismo Gln223Arg entre pacientes obesos e indivíduos com peso normal. Mas 223Arg (GG) apresentava menor nível de leptina no plasma (p= 0,009) e apresenta menor IMC em homens obesos (p=0,007) comparado aos homozigotos (AA).
De Luis/2009 (31)	Lys656Asn	19,5 % Lys656/Asn656 ou Asn656/Asn656	p<0,05- Usaram somente o modelo dominante. A perda de peso no grupo polimórfico foi maior, mas o peso inicial também era mais elevado nesse grupo. Não houve diferenças entre os grupos nos demais parâmetros.
Marti/2009 (32)	Lys109Arg Gln223Arg, Ser343Ser Lys656Asn	40%, 52,7%, ND e 27,6%, respectivamente.	NS
Pyrzak/2009 (33)	Gln223Arg	AG: 55,4% GG: 23,8%	NS
Bienertova-Vasku/ 2010 (34)	Gln223Arg	AG: 33% GG: 12%	NS - 223Arg (G) associado maior risco de desenvolver pressão elevada. Além disso, pacientes com o genótipo GG apresentam maior consumo alimentar na janta. (p=0,005).
Constantin/2010 (35)	Gln223Arg	AG: 54,6% GG: 18,51%	NS - Entretanto, os portadores do alelo G tinham aumentados níveis de glicose total de jejum (p = 0,040), triglicérides (p = 0,017), e diminuição dos níveis de HDL (p = 0,035).

Tabela 2. Continuação

Furusawa/2010 (36)	Gln223Arg Lys109Arg	FA: de 75% a 87% e de 22,9% a 42,4%, conforme etnia, respectivamente.	Gln223 foi associado com o peso corporal, IMC, e obesidade ($P < 0,001$). A obesidade foi encontrada mais frequentemente nos polinésios e menos em melanésios. O genótipo Gln223 aumenta o risco de obesidade em comparação com o genótipo Arg223Arg (OR = 1,80, IC 95% 1,06-3,07, $P = 0,0296$). Gln223 é um fator para o peso corporal ($P = 0,0010$), IMC ($P = 0,0045$), e obesidade ($P = 0,0026$).
Sarzynshi/2011 (37)	Rs 9436740	ND	$P = 0,0104$ - Associado com maior perda de peso.
Komşu-Örnek/2012 (38)	Gln223Arg	ND	NS
Boumaiza/2012 (39)	Gln223Arg	AG: 41,8% GG: 21,88%	223Arg (GG) era associado com maior obesidade (OR:1.74 $p:0,037$) em pacientes com sobrepeso. Ainda foi associado com maior IMC, consumo energético, glicemia, insulinemia e alterações no perfil lipídico ($p < 0,05$).
Carpenter/2013 (40)	Lys109Arg	AG: 37,5% AA: 56,3%	NS - Mas quando em associação com o genótipo A2/A2DrD2 TAq1 da dopamina, apresenta IMC associado a valores elevados.
Oliveira/2013 (41)	Lys109Arg Gln223Arg Lys656Asn	FA: 37,8%, 37,5% e 30,7% respectivamente.	LEPR Arg109Arg apresentavam menor risco de obesidade ($p:0,007$), enquanto 223Arg (G) associados a maior CC ($p: 0,047$). SNPs são associados com obesidade, hiperleptinemia e perfil lipídico aterogênico sugerindo seu papel potencial para a resistência à leptina e risco cardiovascular.
Luperini/2015 (42)	Gln223Arg	AG: 47,2% GG: 30%	NS
Chavarria-Avila/2015 (43)	Gln223Arg	Obesos AG: 61%; GG 20,7% Sobrepeso AG: 57,6%; GG 17,1%	Diferença entre genótipos de pacientes controles (eutróficos), sobrepesos e obesos ($p:0,0197$). Também observada diferença entre os fenótipos de $IMC > 25$ e < 25 ($p:0,005$). Percentual de gordura é menor no 223Arg (GG).

¹ Diferença entre as frequências de Obesos/Sobrepeso e Não obesos. CQ: Circunferência do Quadril; GA: Gordura Abdominal; IMC: Índice de Massa Corporal; CC: Circunferência da cintura; FA: Frequência alélica (%). NS: Não Significativo; ND: Não Descrito

Discussão

141

142 O acervo examinado nesta revisão não permitiu esclarecer se existe uma associação
143 robusta entre SNPs do LEPr e obesidade. Outras revisões falharam em esclarecer essa questão.
144 Heo e colaboradores relataram falta de associação com o IMC ou circunferência da cintura em
145 duas revisões desse grupo (9,13). Uma terceira revisão, de estudos casos-controle, também não
146 encontrou associação de variantes polimórficas do LEPr com obesidade e IMC ou outros
147 parâmetros antropométricos (12). Mais recentemente outras duas revisões referem que a
148 associação é inconclusiva, de forma similar a este artigo (7,10). Já Yu e colaboradores concluem
149 que não existem associações entre LEPr e obesidade. No entanto, fazem uma ressalva de que
150 estes resultados "nulos" eram de pequeno poder devido a um tamanho de amostra coletivo
151 pequeno, e que a análise de estudos de caso-controle adicionais, com amostras maiores, poderia
152 fornecer outros esclarecimentos (11).

153 A falta de associação entre algumas variantes polimórficas do LEPr e obesidade pode
154 ser devida à patogênese complexa dessa doença, que envolve um grande número de fatores
155 genéticos e ambientais (7, 9-13). Além disso, muitos estudos apresentam baixo poder para
156 detectar pequenos efeitos. O papel da seleção natural também deveria ser abordado (7,10,11).

157 É possível que estes resultados conflituosos possam ser, também, devido às diferenças
158 de etnias das amostras estudadas, sendo a análise poucas vezes feita com o mesmo grupo
159 populacional. Além disso, uma associação fraca poderia não ser observada em razão de um
160 limitado número de indivíduos analisados em alguns estudos incluídos nessa revisão. Como se
161 observa nas tabelas 1 e 2, cinco dos estudos que não apresentaram associações significativas
162 tinham um tamanho amostral menor do que 100 indivíduos, um número amostral limitado,
163 especialmente quando se trata de estudos de associação (18, 24, 34, 39, 40).

164 Nos diferentes estudos, a aplicação de modelos genéticos foi variada. Codominância,
165 dominância e modelo recessivo não foram usados em todos os manuscritos, dificultando as
166 comparações entre eles (tabela 2). Diversos estudos descrevem somente a frequência alélica
167 dos genes, não fornecendo informações acerca dos genótipos encontrados; assim, a diferença
168 na forma de avaliar esses SNPs provavelmente impacta nos resultados.

169 Outro fator que deve ser analisado criteriosamente é a questão de nomenclaturas. O
170 polimorfismo Gln223Arg ou também denominado Q223R foi identificado pela primeira vez
171 por Considine e colaboradores e consiste de uma alteração de sequência (A> G) na posição 668
172 do cDNA do receptor da leptina. Essa substituição de base altera a glutamina (denominada Q)

173 por uma arginina (denominada R) na proteína do receptor da leptina (44). Diversos autores
174 utilizam a nomenclatura referindo-se a mudanças no DNA (A>G), e outros a mudanças na
175 proteína (Q-R ou Gln/Arg). Isso pode aumentar a possibilidade de erros, pela confusão entre o
176 "A" do alelo e o "A" do aminoácido arginina (30). Existem várias formas de denominar as
177 alterações no SNP, descritas nos estudos incluídos nessa revisão, conforme mostra o quadro
178 abaixo (Figura 2). Um dos estudos incluídos nessa revisão contém possíveis erros de
179 nomenclatura, definindo a mudança na sequência do LEPr Gln223Arg como A>C (39).

180 **Figura 2 – Nomenclatura de SNPs do Gln223Arg**

A>G ou A→G
CAG → CGC
Gln → Arg
Q→R
223Q → 223R ou Q223→R223
223Gln → Arg223

181
182 Esta aparente ausência de associação em alguns estudos não indica necessariamente que
183 os polimorfismos analisados não desempenham um papel na obesidade. Ao se estudar traços
184 poligênicos é importante manter em mente que, geralmente, cada um contribui com uma
185 pequena porção que modula o fator em análise, o que implica que a mesma perturbação, em
186 diferentes amostras, pode ser causada por diferentes combinações poligênicas (34). Duarte e
187 colaboradores demonstram que a combinação dos haplótipos LEP c.-2548G>A e LEPr
188 Gln223Arg aumenta em 58% o risco de obesidade, sendo que diversos estudos não observam
189 associações quando avaliam isoladamente um ou outro SNP. Assim sendo, mesmo que SNPs
190 do LEPr não estejam associados claramente ao IMC, podem estar vinculados a mudanças na
191 composição corporal (45) e outros fatores que impactam na obesidade (25).

192 Os polimorfismos mais estudados são as variantes Gln223Arg (rs1137101), Lys109Arg
193 (rs1137100), Lys656Asn (rs8179183) e Pro1019Pro (rs1805096), sendo o Gln223Arg o mais
194 avaliado. Uma das primeiras descrições do Gln223Arg (rs1137101) foi o estudo do Thompson,
195 (1997) que, avaliou 20 índios Pima e diversos sítios polimórficos do LEPr, comparando essas
196 frequências alélicas com uma população de caucasianos (46). Os índios Pima são uma amostra
197 relevante de ser estudada, nesse caso, devido aos seus valores extremos de gordura corporal e

198 alta frequência de diabetes tipo 2 (47). Nessa amostra, a substituição de A>G não foi diferente
199 entre os grupos obesos e eutróficos ($P= 0.235$).

200 Chagnon e colaboradores propuseram que a substituição de um aminoácido no
201 códon 223 pode alterar a capacidade de sinalização do LEPr. Esse códon está localizado no
202 éxon 6, perto da primeira de duas citoquinas que representam as regiões de ligação da leptina.
203 Portanto, esse SNP é sugestivo de algum efeito funcional na proteína produzida pelo alelo
204 polimórfico (48). Um estudo de base familiar, o *Québec Family Study*, observou uma forte
205 associação do polimorfismo Gln223Arg com massa gorda (45). Outro estudo de base familiar,
206 o HERITAGE *family study*, observou que portadores do alelo G (Arg) apresentam maior média
207 de IMC e massa gorda e, ainda, que essas associações seriam mais evidentes em pais, mas não
208 na sua prole (48). Em estudos incluídos nessa revisão, Gln223Arg estaria associado, também,
209 a alterações da secreção de insulina (35, 39, 41, 49). Isso ocorreria por que a leptina inibe
210 especialmente a secreção de insulina estimulada pela glicose a partir de células pancreáticas
211 (50).

212 Embora a variante Gln223Arg não tenha sido associada com adiposidade em índios
213 Pima, indivíduos homocigóticos para o alelo G (Arg223 - 223R) tiveram menor gasto de energia
214 em 24h em comparação com o alelo A e AG, demonstrando um provável papel dessa variante
215 na regulação do peso corporal (51). Historicamente, se considerava que o alelo de risco para o
216 SNP Gln223Arg era o alelo A (ancestral), que se associava com maiores medidas de peso (46;
217 48). Os indivíduos portadores desse alelo tinham maior IMC (AA: $27,2 \pm 0,5$ kg / m²; AG: $27,2$
218 $\pm 0,5$ kg / m²) do que aqueles portadores do alelo G (GG $25,4 \pm 0,6$ kg / m²; $P = 0,007$) (19).
219 Também apresentavam maiores níveis de massa adiposa ($P=0.006$).

220 Mas, outros estudos mostraram um potencial risco relativo ao alelo polimórfico.
221 Homens caucasianos de meia-idade que eram portadores do alelo polimórfico Gln223Arg
222 tinham maior IMC, percentual de massa gorda e níveis plasmáticos de leptina do que os não
223 portadores (47). Assim como foi observado em famílias canadenses (45) em estudantes gregos
224 (20), e descendentes europeus no Brasil (22) (tabela 2).

225 De uma forma geral, dos artigos que observaram resultados significativos e que
226 analisaram a variante Gln223Arg, cinco (19, 21, 25, 36, 43) observaram que os portadores do
227 alelo A - ancestral (223Q, Gln/Gln ou AA) tinham maior risco de obesidade, enquanto seis
228 observaram que os portadores do alelo G - polimórfico (223R, Arg/Arg ou GG) tinham maior
229 risco (20, 22, 27, 28, 39, 41). Assim, embora pareça que o Gln223Arg desempenhe um papel

230 na obesidade, não existe consenso sobre qual variante alélica seria considerada de maior risco
231 para a população em geral.

232 Esta discrepância implica a possibilidade de que o SNP possa ter sido pobremente
233 avaliado (sem considerar todos os modelos de herança, análise estatística menos robusta ou
234 erros de nomenclatura) ou que existam interações não relatadas em relação a outros genes ou
235 fatores ambientais, como padrões de alimentação, que impactem nessa variante. Um único
236 estudo avaliou as interações gene e nutriente, observando um possível envolvimento do SNP
237 Gln223Arg na regulação da ritmicidade circadiana e comportamento alimentar (34). de Luis
238 Roman e colaboradores também relatam o papel do SNPs Lys656Asn secundário a alterações
239 ambientais (31). Os dados disponíveis nos fazem especular que em diferentes “backgrounds”
240 étnicos culturais, geográficos ou familiares, interações complexas levam a reflexos fenotípicos
241 semelhantes, no que tange ao peso.

242 Cabe ressaltar a importância da análise ajustada por gênero, que não foi realizada em
243 todos os estudos incluídos nessa revisão. Existem diferenças profundas nos níveis e funções de
244 leptina entre gêneros. A leptina tem um papel na reprodução e níveis de leptina sérica são mais
245 elevados em mulheres do que em homens, mesmo quando ajustado para o IMC. Além disso, os
246 níveis variam significativamente com o ciclo menstrual e com a menopausa. Isto pode
247 representar um importante fator de confusão em estudos que avaliam a leptina (19). Devido a
248 esses fatores, alguns manuscritos tiveram o cuidado de observar sua amostra em relação a
249 gênero (19, 21, 30).

250 Um estudo que avaliou três variantes polimórficas (Lys109Arg, Gln223Arg, e
251 Lys656Asn) investigou o papel desses SNPs em duas coortes (n = 17,500) no ganho e peso
252 após 6 a 8 anos de seguimento, relatando que em indivíduos do sexo masculino a associação
253 entre a leptina e ganho de peso tende a ser mais forte nos portadores do alelo G (Arg223,223
254 RR, GG) em comparação com aqueles sem essa mutação (52).

255 Ben Ali e colaboradores, ao avaliarem a sua amostra total, não observaram associações
256 entre variantes do LEPr e obesidade; no entanto, a análise estratificada por gênero revelou que
257 os pacientes do sexo masculino portadores do alelo G (223Arg) tinham IMC mais baixo
258 (p=0,007) e leptina sérica menor (p= 0,037) do que os indivíduos homocigotos para o alelo A
259 (Gln223n) (30). E, ainda, referem que observaram associações do LEPr223 (G) com
260 adiposidade abdominal restrito apenas ao gênero masculino (30).

261 Acredita-se que essas diferenças de gênero são predominantemente devido a esteroides
262 sexuais. Os receptores de estrogênios e androgênios são expressos em neurónios do hipotálamo

263 que podem afetar sistemas de homeostase energética. Por causa destes receptores, esteroides
264 sexuais são fortes candidatos a modular a sensibilidade do sistema nervoso central para sinais
265 mediados por leptina, o que poderia explicar a especificidade por gênero e salientar a
266 necessidade de avaliações separadas para homens e mulheres (30).

267 Outros estudos demonstram que o gênero sexual também impacta nas interações
268 poligênicas. Angeli e colaboradores referem que analisaram todos os dados por gênero,
269 separadamente, e observaram uma interação entre LEPr-ADRB2 apenas em homens,
270 mostrando um efeito específico do gênero no risco de sobrepeso/obesidade associado ao
271 ADRB2-LEPr. Assim, baseado nesses dados, não podemos afirmar que haja um papel claro
272 dos SNPs do LEPr na obesidade. No entanto, por seus inúmeros efeitos já descritos no
273 metabolismo, acredita-se que haja uma interferência desses SNPs na gênese da obesidade,
274 sendo pouco claro seu real impacto.

275 Cabe ressaltar que este estudo tem algumas limitações: 1) os estudos incluídos não
276 foram filtrados por seus tamanhos amostrais e nem quanto as diferenciações acerca dos pontos
277 de corte do IMC. 2) Devido ao número limitado de estudos com amostras de cada etnia, é
278 impossível, no momento, descobrir mais sobre o efeito que cada SNP pode exercer em
279 diferentes raças. 3) Os estudos não consideram interações ambientais diversas, inclusive efeitos
280 de variações individuais na ingestão de nutrientes sobre a expressão gênica. 4) A grande
281 variabilidade amostral observada (gênero, idade, etnia) impacta nas comparações dos estudos
282 e na avaliação como um todo, dificultado a análise das associações das variantes de interesse
283 com a obesidade. 5) Os estudos avaliados não consideram as interações entre loci genéticos
284 (epistasia) (54-55). Portanto, salienta-se a necessidade de se realizar novos estudos com
285 desenho epidemiológico adequado e maior tamanho amostral, buscando avaliar a natureza da
286 epistasia e interações entre loci genéticos (55 -56). 6) Esse estudo não considera as interações
287 genéticas relativas a epigenética e possíveis modulações genéticas oriundas dessa regulação.

288

289

Conclusão

290 Muitos estudos epidemiológicos e clínicos foram realizados para investigar a associação
291 entre polimorfismos do gene LEPr e obesidade. Em geral, demonstram limitada influência do
292 gene. As variantes do gene LEPr podem se associar com fenótipos intermediários, os quais em
293 última instância podem, em associação e interação com outros fatores genéticos e não genéticos,
294 determinar risco de obesidade.

- 296 1. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, et al. Global, regional, and national
297 prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic
298 analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014 Aug 30;384 (9945):766-
299 81.
- 300 2. Ricci MA, De Vuono S, Scavizzi M, Gentili A, Lupattelli G. Facing Morbid Obesity: How
301 to Approach It. *Angiology*. 2016 Apr;67(4):391-7.
- 302 3. World Health Organization (2000) *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic*.
303 Geneva: WHO.
- 304 4. Noble EE, Kanoski SE. Early life exposure to obesogenic diets and learning and memory
305 dysfunction. *Curr Opin Behav Sci*. 2016 Jun;9:7-14.
- 306 5. O'Rahilly S, Farooqi IS. The Genetics of Obesity in Humans. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz
307 P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar
308 R, Singer F, Vinik A, Weickert MO, editors. *SourceEndotext* [Internet]. South Dartmouth
309 (MA): MDText.com, Inc.; 2000-.2013 Mar 23.
- 310 6. Phillips CM. Nutrigenetics and metabolic disease: current status and implications for
311 personalised nutrition. *Nutrients*. 2013;5(1):32-57.
- 312 7. Bender N, Allemann N, Marek D, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Egger M, Bochud
313 M. Association between variants of the leptin receptor gene (LEPR) and overweight: a
314 systematic review and an analysis of the CoLaus study. *PLoS One*. 2011;6(10):e26157.
- 315 8. Qu Y, Yang Z, Jin F, Sun L, Zhang C, Sun H, Wang B, Wang L. Analysis of the relationship
316 between three coding polymorphisms in LEPR gene and obesity in northern Chinese. *Obes Res
317 Clin Pract*. 2007 Dec;1(4):223-90.
- 318 9. Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen
319 U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL,
320 Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt
321 MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ, Gropp E, Allison DB. A meta-analytic investigation
322 of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass
323 index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 May;26(5):640-6.
- 324 10. Ghalandari H, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P. The Association of Polymorphisms in
325 Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity
326 and the Related Metabolic Disturbances: A Review *Int J Endocrinol Metab*. 2015 Jul; 13(3):
327 e19073.
- 328 11. Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X. Genetic polymorphisms in adipokine genes
329 and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)*. 2012
330 Feb;20(2):396-406.
- 331 12. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of Leptin and Obesity: A HUGE Review. *Am J
332 Epidemiol* 2005; 162(2): 101-114.

- 333 13.Heo M, Leibel RL, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen
334 A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR,
335 Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs
336 KB, Elston RC, Hoffman DJ, Allison DB. Pooling analysis of genetic data: the association of
337 leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics*.
338 2001 Nov;159(3):1163-78.
- 339 14.Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of
340 pathobiological and clinical chemical aspects of leptin, grehlin, adiponectin, and resistin. *Clin*
341 *Chem*, 50 (2004), pp. 1511–1525
- 342 15.Fernandes MF, Matthys D, Hryhorczuk C, Sharma S, Mogra S, Alquier T, Fulton S. Leptin
343 Suppresses the Rewarding Effects of Running via STAT3 Signaling in Dopamine Neurons. *Cell*
344 *Metab*. 2015 Oct 6;22(4):741-9.
- 345 16.Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred
346 Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *BMJ*
347 2009;339:b2535
- 348 17.Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, Imrie H, Evans AL, Strosberg AD, McKeigue PM,
349 Scott J, Aitman TJ. Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white
350 British male population. *Hum Mol Genet*. 1997 Jun;6(6):869-76.
- 351 18. Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui
352 K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, Nakao K. Human leptin
353 receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or
354 association of sequence variants with obesity. *Diabetologia*. 1997 Oct;40(10):1204-10.
- 355 19.Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism
356 (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in
357 postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet*. 2001 Mar;108(3):233-6
- 358 20.Yiannakouris N. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly
359 associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition
360 variability, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. *J Clin*
361 *Endocrinol Metab*. 2001 Sep;86(9):4434-9.
- 362 21.Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, Van Gaal
363 LF, Bouchard C. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat
364 distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001
365 May;25(5):714-20.
- 366 22.Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the
367 leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002
368 Sep;26(9):1179-85.
- 369 23.van Rossum CT, Hoebee B, Seidell JC, Bouchard C, van Baak MA, de Groot CP, Chagnon
370 M, de Graaf C, Saris WH. Genetic factors as predictors of weight gain in young adult Dutch
371 men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Apr;26(4):517-28.

- 372 24.Guízar-Mendoza JM, Amador-Licona N, Flores-Martínez SE, López-Cardona MG,
373 Ahuatzin-Trémery R, Sánchez-Corona J. Association analysis of the Gln223Arg polymorphism
374 in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *J Hum*
375 *Hypertens.* 2005 May;19(5):341-6.
- 376 25.Portolés O, Sorlí JV, Francés F, Coltell O, González JI, Sáiz C, Corella D. Effect of genetic
377 variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-
378 based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol.* 2006;21(8):605-12
- 379 26.Wang TN, Huang MC, Chang WT, Ko AM, Tsai EM, Liu CS, Lee CH, Ko YC. G-2548A
380 polymorphism of the leptin gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines.
381 *Obesity (Silver Spring).* 2006 Feb;14(2):183-7.
- 382 27.Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu VA, Cabello PH, Pimentel MM. LEPR p.Q223R,
383 beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. *Genet Mol*
384 *Res.* 2007 Oct 5;6(4):1035-43.
- 385 28.Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Deniz Ozsoy E, Ozata M. LEPR, ADBR3, IRS-1 and
386 5-HTT genes polymorphisms do not associate with obesity. *Endocr J.* 2007 Feb;54(1):89-94
- 387 29.Bienertova-Vasku J, Bienert P, Tomandl J, Forejt M, Vavrina M, Kudelkova J, Vasku A.
388 No association of defined variability in leptin, leptin receptor, adiponectin,
389 proopiomelanocortin and ghrelin gene with food preferences in the Czech population. *Nutr*
390 *Neurosci.* 2008 Feb;11(1):2-8
- 391 30.Ben Ali S, Kallel A, Sediri Y, Ftouhi B, Feki M, Slimene H, Jemaa R, Kaabachi N. LEPR
392 p.Q223R Polymorphism influences plasma leptin levels and body mass index in Tunisian obese
393 patients. *Arch Med Res.* 2009 Apr;40(3):186-90.
- 394 31.de Luis DA, Aller R, Sagrado MG, Izaola O, Terroba MC, Cuellar L, Conde R, Martin T.
395 Influence of lys656asn polymorphism of leptin receptor gene on surgical results of
396 biliopancreatic diversion. *J Gastrointest Surg.* 2010 May;14(5):899-903.
- 397 32.Marti A, Santos JL, Gratacos M, Moreno-Aliaga MJ, Maiz A, Martinez JA, Estivill X.
398 Association between leptin receptor (LEPR) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF)
399 gene variants and obesity: a case-control study. *Nutr Neurosci.* 2009 Aug;12(4):183-8.
- 400 33.Pyrzak B, Wisniewska A, Kucharska A, Wasik M, Demkow U. No association of LEPR
401 Gln223Arg polymorphism with leptin, obesity or metabolic disturbances in children. *Eur J Med*
402 *Res.* 2009 Dec 7;14 Suppl 4:201-4.
- 403 34.Bienertová-Vasků J, Bienert P, Forejt M, Tomandl J, Brázdová Z, Vasků A. Genotype x
404 nutrient association of common polymorphisms in obesity-related genes with food preferences
405 and time structure of energy intake. *Br J Nutr.* 2010 Feb;103(3):352-9.
- 406 35.Constantin AI Costache G, Sima AV, Glavce CS, Vladica M, Popov DL. Leptin G-2548A
407 and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian
408 subjects. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jan 1;391(1):282-6.

- 409 36.Furusawa T, Naka I, Yamauchi T, Natsuhara K, Kimura R, Nakazawa M, Ishida T, Inaoka
410 T, Matsumura Y, Ataka Y, Nishida N, Tsuchiya N, Ohtsuka R, Ohashi J. The Q223R
411 polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders. *Hum Genet.* 2010
412 Mar;127(3):287-94.
- 413 37.Sarzynski MA¹, Jacobson P, Rankinen T, Carlsson B, Sjöström L, Bouchard C, Carlsson
414 LM. Associations of markers in 11 obesity candidate genes with maximal weight loss and
415 weight regain in the SOS bariatric surgery cases. *Int J Obes (Lond).* 2011 May;35(5):676-83
- 416 38.Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ouedrani A, Ben Rejeb N, Nabli N, Ben
417 Abdelaziz A, Bouslama A. Relationship Between Leptin G2548A and Leptin Receptor Q223R
418 Gene Polymorphisms and Obesity and Metabolic Syndrome Risk in Tunisian Volunteers. *Genet
419 Test Mol Biomarkers.* 2012 Jul;16(7):726-33
- 420 39.Komşu-Ornek Z Leptin receptor gene Gln223Arg polymorphism is not associated with
421 obesity and metabolic syndrome in Turkish children., Demirel F, Dursun A, Ermiş B, Pişkin E,
422 Bideci A. *Turk J Pediatr.* 2012 Jan-Feb;54(1):20-4.
- 423 40.Carpenter CL, Wong AM, Li Z, Noble EP, Heber D. Association of dopamine D2 receptor
424 and leptin receptor genes with clinically severe obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2013
425 Sep;21(9):E467-73.
- 426 41.Oliveira Rd, Cerda A, Genvigir FD, Sampaio MF, Armaganijan D, Bernik MM, Dorea EL,
427 Hirata MH, Hinuy HM, Hirata RD. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with
428 adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*
429 2013 Dec;57(9):677-84.
- 430 42.Luperini BC, Almeida DC, Porto MP, Marcondes JP, Prado RP, Rasera I, Oliveira MR,
431 Salvadori DM. Gene polymorphisms and increased DNA damage in morbidly obese women.
432 *Mutat Res.* 2015 Jun;776:111-7.
- 433 43.Chavarria-Avila E, Vázquez-Del Mercado M, Gomez-Bañuelos E, Ruiz-Quezada SL,
434 Castro-Albarran J, Sánchez-López L, Martín-Marquez BT, Navarro-Hernández RE. The Impact
435 of LEP G-2548A and LEPR Gln223Arg Polymorphisms on Adiposity, Leptin, and Leptin-
436 Receptor Serum Levels in a Mexican Mestizo Population. *Biomed Res Int.* 2015;2015:539408
- 437 44.Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Hyde TM, Caro JF. The hypothalamic leptin
438 receptor in humans: identification of incidental sequence polymorphisms and absence of the
439 db/db mouse and fa/fa rat mutations. *Diabetes.* 1996 Jul;45(7):992-4.
- 440 45.Chagnon YC, Chung WK, Peruse L, et al. Linkages and association between the leptin
441 receptor (LEPR) gene and human body composition in the Quebec Family Study. *Int J
442 Obes*1999; 23: 278-286.
- 443 46.Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C. Structure and sequence variation at
444 the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet.* 1997
445 May;6(5):675-9.

- 446 47.Lillioja, S., Mott, D.M., Spraul, M., Ferraro, R., Foley, J.E., Ravussin, E., Knowler, W.C.,
447 Bennett, P.H. and Bogardus, C. (1993) Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as
448 precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 329, 1988–1992
- 449 48.Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, et al: Associations between the leptin receptor gene
450 and adiposity in middleaged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin*
451 *Endocrinol Metab* 2000; 85: 29-34.
- 452 49.Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, Pérusse L, Lindell K, Carlsson B,
453 Bouchard C, Björntorp P. Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *J Clin*
454 *Endocrinol Metab* 2000; 85: 3126–3131.
- 455 50.Wauters M, Mertens I, Rankinen T, Chagnon M, Bouchard C, Van Gaal L. Leptin receptor
456 gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose
457 tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3227–3232.
- 458 51. Stefan N, Vojarova B, Del Parigi A, Ossowski V, Thompson DB, Hanson RL, Ravussin E,
459 Tataranni PA. The Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor in Pima Indians: influence
460 on energy expenditure, physical activity and lipid metabolism. *Int J Obes* 2002; 26: 1629–1632.
- 461 52.van Rossum CT, Hoebee B, van Baak MA, Mars M, Saris WH, Seidell JC. Genetic variation
462 in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obes Res.* 2003
463 Mar;11(3):377-86.
- 464 53.Angeli CB, Kimura L, Auricchio MT, Vicente JP, Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH,
465 Pereira AC, Pereira TV, Mingroni-Netto RC.. Multilocus analyses of seven candidate genes
466 suggest interacting pathways for obesity-related traits in Brazilian populations. *Obesity (Silver*
467 *Spring)*. 2011 Jun;19(6):1244-51
- 468 54.Eichler EE, Flint J, Gibson G, Kong A, Leal SM, Moore JH, Nadeau JH. Missing heritability
469 and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nat Rev Genet.* 2010 Jun;
470 11(6):446-50.
- 471 55.Zaitlen N, Kraft P. Heritability in the genome-wide association era. *Hum Genet.* 2012 Oct;
472 131(10):1655-64.
- 473 56.Mackay TF. Epistasis and quantitative traits: using model organisms to study gene-gene
474 interactions. *Nat Rev Genet.* 2014 Jan; 15(1):22-33.

Capítulo II

Associação dos polimorfismos do LEPr (rs1137101 e rs8179183) ao TCAP

Jaqueline Driemeyer Correia Horvath ^{1, 2, 3}

Mariana Laitano Dias de Castro Heredia^{1,3}

Natália Luiza Kops^{1,3}

Fabiana Silva da Costa^{1,3}

Rogério Friedman ^{1,3,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia-UFRGS

² Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – Graduação em Nutrição - UCS

³ Serviço de Endocrinologia – Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA

⁴ Departamento de Medicina Interna – FAMED-UFRGS

Endereço para correspondência:

Jaqueline Driemeyer Correia Horvath

Universidade de Caxias do Sul

Centro de Ciências da Saúde - Graduação Nutrição

Campus Sede: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 - CEP 95070-560 - Caxias do Sul

Fone: (+5554) 3218-2100

Cel: (+5551) 94159474

Email: nut.jaquelinehorvath@gmail.com

Resumo

Objetivo: O objetivo desse estudo foi avaliar as associações do polimorfismo do LEPr e a presença de transtorno de compulsão alimentar periódica (TCAP) em pacientes obesos.

Métodos: Um estudo transversal com 222 indivíduos adultos gravemente obesos foi conduzido. Dois SNPs do LEPr (LEPr 223 e LEPr 656) foram genotipados e analisados. Os pacientes eram entrevistados e submetidos a aplicação de questionários, incluindo escala de compulsão alimentar periódica (ECAP), questionário de padrões de alimentação e peso revisado (QEWP-R) e entrevista estruturada para avaliação de doenças do DSM IV (SCID). Além de realizarem avaliação antropométrica.

Resultados: O alelo selvagem do gene LEPr 656 (GG) foi observado mais frequentemente no grupo de pacientes com o IMC menor ($p=0.038$). O mesmo foi observado ao ser analisado o índice de adiposidade corporal ($p=0.030$). Já o LEPr 223 não foi associado a nenhum parâmetro antropométrico, nessa amostra. Em contrapartida, observamos o LEPr 223 associado ao TCAP, em dois modelos de herança analisados, co-dominante e dominante ($p<0.05$). O LEPr 656 não foi associado ao TCAP em nenhum modelo de herança.

Conclusão: Em pacientes com obesidade grave, o LEPr 223 se associa ao TCAP, enquanto o LEPr 656 se associa com índices antropométricos.

Palavras chaves: Receptor de Leptina, TCAP, Obesidade

48

Introdução

49

50

51

52

53

54

55

Desde a identificação do gene da leptina, em 1994, progressos importantes têm sido feitos na compreensão da regulação da homeostase energética (1). Numerosos estudos sugerem uma contribuição genética importante na etiologia de obesidade, mas, até o momento, não há consenso sobre quais genes seriam candidatos a marcadores de susceptibilidade genética (2-5). Devido ao seu papel amplamente descrito na obesidade, os genes de leptina (LEP) e do receptor de leptina (LEPr) têm-se mostrado importantes na regulação do peso corporal e no desenvolvimento da obesidade (6-14).

56

57

58

59

60

61

62

A leptina é liberada dos adipócitos como um sinal do estoque de gordura corporal e atua como um fator de saciedade, já que o seu receptor é localizado principalmente no hipotálamo, área do cérebro envolvida na regulação da ingestão de alimentos. Além de regular a saciedade, a leptina aumenta a termogênese através do sistema nervoso simpático (15). Mutações de um único nucleotídeo (SNP) no gene da leptina resultam em uma proteína truncada e SNPs do gene do LEPr resultam em uma terminação prematura do domínio intracelular; em ambos casos, há alteração na sinalização (16).

63

64

65

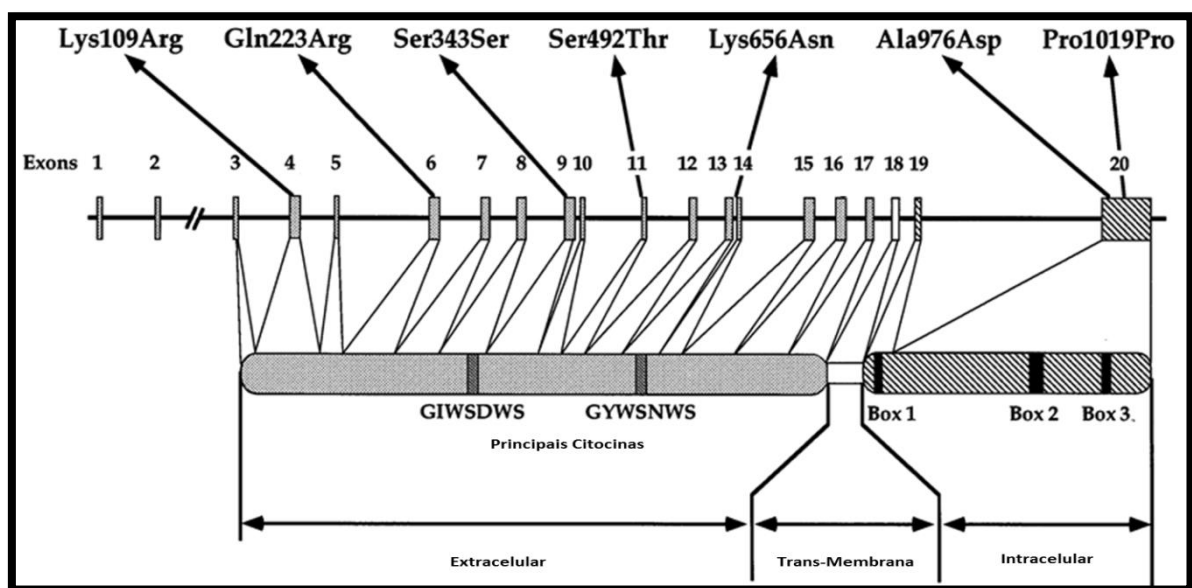
66

67

68

Diversas variantes polimórficas no gene LEPr já foram descritas, como demonstra a figura 1. Apenas as variantes Gln223Arg (LEPr 223) e Lys656Asn (LEPr 656) acarretam mudanças de carga de aminoácidos (neutro para positivo e positivo para neutro, respectivamente) (17) e são, portanto, mais susceptíveis de causarem consequências funcionais no receptor.

Figura 1. Representação esquemática do gene de LEPR e a sua estrutura proteica



69

70

Fonte: Matsuoka N e colaboradores. Diabetologia. 1997 (6).

71 Tanto o polimorfismo Gln223Arg (A>G) quanto o Lys656Asn (G>C) encontram-se na
72 região que codifica o domínio extracelular do receptor da leptina e, portanto, as alterações
73 desses aminoácidos afetam a forma do receptor (18). Tem sido demonstrado que o
74 polimorfismo LEPr Gln223Arg está associado com uma variação na capacidade de ligação do
75 receptor; níveis mais elevados de atividade de ligação foram observados em indivíduos
76 homocigóticos para o alelo G do que nos portadores do alelo A (19). Por outro lado, o papel
77 das variantes Gln223Arg e Lys656Asn na obesidade ainda não está esclarecido, com uma vasta
78 gama de resultados conflitantes publicados na literatura (20-25).

79 Desta forma, por sua ação na regulação da ingestão alimentar e seu possível papel na
80 gênese da obesidade, um distúrbio no receptor da leptina poderia estar associado a transtornos
81 alimentares, como anorexia nervosa (AN), bulimia nervosa (BN) e transtorno de compulsão
82 alimentar periódica (TCAP) (26). O TCAP é mais prevalente em obesos do que na população
83 em geral. No Brasil, a prevalência de TCAP para a população varia de 5% a 8,5% (27,28). A
84 prevalência do TCAP em pacientes obesos, no Brasil, varia de 15 a 50% (29,30). Após a
85 alteração dos critérios do DSM IV para o DSM V, essas prevalências podem vir a se mostrar
86 ainda, superiores (31).

87 As concentrações de leptina em pacientes com TCAP ou com perda do controle
88 alimentar parecem ser superiores, independente da massa adiposa (32). Não há estudos de
89 associação dos polimorfismos do receptor de leptina com transtornos alimentares. Uma melhor
90 compreensão dessas associações poderia auxiliar na elucidação da gênese da obesidade, bem
91 como propor novas formas de identificar esses pacientes. Assim, o objetivo desse estudo foi
92 avaliar a associação dos polimorfismos do LEPr ao TCAP em pacientes obesos.

93

94

Métodos

95 Nossa amostra foi composta por indivíduos obesos, de etnias diversas, residentes no
96 estado do Rio Grande do Sul, o estado mais ao sul do Brasil. A população é principalmente de
97 descendência portuguesa, mas italianos, espanhóis e alemães também contribuíram para seu
98 pool genético. Os indivíduos que constituem nossa amostra foram encaminhados ao Hospital
99 de Clínicas de Porto Alegre de diversas localidades do estado para tratamento de obesidade,
100 sendo assim, considerados uma amostra aleatória da população. Os pacientes que fizeram parte
101 desse estudo foram atendidos no HCPA entre Janeiro de 2010 até dezembro de 2013. Todos os
102 indivíduos passaram por uma avaliação psicológica através da escala de compulsão alimentar
103 periódica (ECAP), questionário de padrões de alimentação e peso revisado (QEWPR) (33) e

104 entrevista estruturada para avaliação de doenças do DSM IV (SCID). Todos os instrumentos de
105 avaliação psicológica foram aplicados por um psicólogo treinado. Todos os participantes
106 assinaram um consentimento informado. O comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto
107 Alegre aprovou o estudo sob o número de registro 110068 e CONEP/CAAE: 0015.0.001.000-
108 11.

109 **Análise Antropométrica:**

110 A avaliação nutricional se deu através de medidas antropométricas. Estas compreendem:
111 peso, estatura, circunferência abdominal (CA) e circunferência do quadril (CQ). O peso (kg)
112 foi aferido em balança antropométrica digital (Filizolla, Brasil), com sensibilidade de 0,1 kg,
113 com roupas leves e sem calçados. A estatura (m) foi medida em estadiômetro de parede
114 (Sanny®, Brasil) e as circunferências com fita métrica inelástica, de fibra de vidro (Wiso®,
115 Brasil). O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso pelo quadrado da
116 estatura, além do IMC calculou-se também o índice de adiposidade corporal (IAC) (34). Todas
117 as aferições seguiram as recomendações do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional do
118 Ministério da Saúde (35).

119 **Análise Genética:**

120 Uma amostra de sangue periférico (4 ml) foi coletada, conforme padrões internacionais
121 (36) e, imediatamente, congelada a -85°C. A detecção dos polimorfismos foi realizada por
122 amplificação de DNA em tempo real (Ensaio ID C_30090620_10; TaqMan® SNP genotyping
123 Assays, Applied Biosystems, CA, USA). Em equipamento ABI PRISM 7000 Real-time PCR
124 system (Applied Biosystems, CA, USA).

125 O seguinte protocolo de amplificação foi empregado: um ciclo inicial de 95°C por 10
126 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, e um ciclo final de 60°C por 1,5
127 minutos. Após a amplificação, a interpretação dos dados e a leitura do genótipo foram realizadas
128 através do software SDS 1.1 (Applied Biosystems, CA, USA). Foram avaliados os SNPs
129 Gln223Arg (A > G; rs1137101) e Lys656Asn (G > C; rs8179183 recentemente incorporado ao
130 rs1805094).

131 **Análise Estatística:**

132 Testes qui-quadrado (χ^2) foram usados para testar diferenças entre as frequências
133 esperadas e observadas, assumindo o equilíbrio de Hardy-Weinberg (37). As variáveis tiveram

134 suas normalidades testadas através do teste de Kolmogorov-Smirnov; para aquelas com
135 distribuição não Gaussiana, foi aplicada transformação logarítmica, ou foram utilizados testes
136 não paramétricos. Os resultados são expressos como média e desvio padrão (DP), mediana e
137 intervalo interquartil ou como número ou percentual (%) de pacientes com a característica
138 analisada.

139 Análises adicionais foram realizadas estratificando a amostra. Cada polimorfismo foi
140 avaliado conforme os modelos de herança:

- 141 1) Modelo co-dominante: homocigoto selvagem, heterocigoto, e homocigoto polimórfico;
- 142 2) Modelo de herança dominante: Alelo polimórfico em homocigose ou heterocigose;
- 143 3) Modelo de herança recessivo: Alelo polimórfico somente em homocigose.

144 A amostra, também, foi estratificada pelo IMC para avaliação das diferenças genéticas
145 entre esses grupos, sendo valores inferiores a mediana considerados IMC.MENOR e valores
146 iguais ou acima da mediana considerados IMC.MAIOR. Ainda, estratificamos a amostra
147 conforme etnias auto-definidas (Grupo 1: brancos e grupo 2: pretos, pardos, índios e amarelos).

148 O teste qui-quadrado foi utilizado para avaliar a associação entre variáveis qualitativas
149 (Perfis de herança genética e IMC estratificado, ou TCAP). O teste T de Student ou o teste de
150 U de Mann-Whitney foram aplicados para avaliar as diferenças entre as variáveis quantitativas
151 no modelo dominante e recessivo. Utilizou-se ANOVA (post Hoc teste de Tukey) para avaliar
152 as diferenças entre as variáveis no modelo co-dominante. Foram considerados estatisticamente
153 significativos valores de $P < 0,05$. O software utilizado para fazer as análises foi o SPSS v.21
154 (SPSS, Chicago, IL, USA).

155

156

Resultados

157 Foram avaliados 222 pacientes. No entanto, apenas cento e setenta e quatro
158 genotipagens referentes ao LEPr 223 foram adequadas, e 176 referentes ao LEPr 656. As
159 frequências genotípicas do polimorfismo LEPr 656 estavam conforme o esperado, segundo
160 equilíbrio de Hardy e Weinberg ($\chi^2 = 2,28$ $p > 0,05$); já em relação ao polimorfismo LEPr 223,
161 as frequências genotípicas estavam em desequilíbrio ($\chi^2 = 5,39$ $P < 0,005$) (tabela 1).

Tabela 1. Frequências genotípicas e modelos de Herança conforme IMC

	Total % (n)	IMC Menor % (n)	IMC Maior % (n)	P
LEPr 223 (n 174) Modelo Co-Dominante				
AA	24,7 (43)	44,2 (19)	55,8 (24)	0,683
AG	40,8 (71)	52,1 (37)	47,9 (34)	
GG	34,5 (60)	51,7 (31)	48,3 (29)	
LEPr 223 (n 174) Modelo Recessivo				
AG + AA	65,5 (114)	49,1 (56)	66,7 (58)	0,750
GG	34,5 (60)	51,7 (31)	48,3 (29)	
LEPr 223 (n 174) Modelo Dominante				
AA	24,7 (43)	44,2 (19)	55,8 (24)	0,380
GG + AG	75,3 (131)	78,2 (68)	72,4 (63)	
LEPRr 656 (n 176) Modelo Co-Dominate				
GG	36,4 (64)	60,9 (39)	39,1 (25)	0,057
CG	43,2 (76)	40,8 (31)	59,2 (45)	
CC	20,5 (36)	52,8 (19)	47,2 (17)	
LEPRr 656 (n 176) Modelo Recessivo				
CG + GG	79,5 (140)	50 (70)	50 (70)	0,766
CC	20,5 (36)	52,8 (19)	47,2 (17)	
LEPRr 656 (n 176) Modelo Dominante				
GG	36,4 (64)	60,9 (39)	39,1 (25)	0,038*
CC + CG	63,6 (112)	44,6 (50)	55,4 (62)	

IMC: índice de massa corporal. * Valores significativos $p < 0,05$

162

163

164

165 Em nossa amostra, a variante LEPr 656 apresentou uma associação com o IMC, sendo

166 o alelo ancestral em homozigose (GG) observado em maior frequência no grupo com IMC

167 menor ($p=0,038$), resultado similar foi encontrado ao avaliar-se o índice de adiposidade168 corporal (IAC) ($p=0,030$). A variante LEPr 223 não apresentou nenhuma associação com os

169 parâmetros antropométricos avaliados nesse estudo.

170

171 Em relação ao transtorno de compulsão alimentar periódica (TCAP), sua frequência foi

172 elevada em nossa amostra, sendo que 47,3% apresentaram um rastreamento positivo para a

173 doença (e 24,4% apresentam a forma grave). Os dados do SCID mostraram 32,7% dos

174 participantes com depressão atual e 64,1% com algum grau de depressão passada, apenas 169

175 pacientes realizaram todas as avaliações psicológicas. Como esperado, a depressão (tanto

176 episódios passados quanto atuais) se associou positivamente com TCAP ($p=0,005$ e $p < 0,001$,

respectivamente). A tabela 2 apresenta as frequências genotípicas conforme a presença de

TCAP.

Tabela 2. Frequências genotípicas e modelos de Herança conforme TCAP

	Total % (n)	TCAP (+)	TCAP (-)	P
LEPr 223 (n 169) Modelo Co-Dominante				
AA	23,1 (39)	61,5 (24)	38,5 (15)	0,049*
AG	42,0 (71)	39,4 (28)	60,6 (43)	
GG	34,9 (59)	39,0 (23)	61,0 (36)	
LEPr 223 (n 169) Modelo Recessivo				
AA + AG	65,1 (110)	47,3 (52)	52,7 (58)	0,301
GG	34,9 (59)	39,0 (23)	61,0 (36)	
LEPr 223 (n 169) Modelo Dominante				
AA	23,1 (39)	61,5 (24)	38,5 (15)	0,014*
AG + GG	76,9 (130)	39,2 (51)	60,8 (79)	
LEPRr 656 (n 171) Modelo Co-Dominate				
GG	35,1 (60)	45,0 (27)	55,0 (33)	0,687
CG	43,9 (75)	41,3 (31)	58,7 (44)	
CC	21,1 (36)	50 (18)	50 (18)	
LEPRr 656 (n 171) Modelo Recessivo				
GG + CG	78,9 (135)	43,0 (58)	57,0 (77)	0,450
CC	21,1 (36)	50 (18)	50 (18)	
LEPRr 656 (n 171) Modelo Dominante				
GG	35,1 (60)	45,0 (27)	55,0 (33)	0,914
CG + CC	64,9 (111)	44,1 (49)	55,9 (62)	

TCAP: Transtorno de Compulsão Alimentar Periódica. *Valores significativos $p < 0,05$

177
178

179 Em nossa amostra, a variante LEPr 223 está associada ao TCAP, tanto no modelo de
180 herança co-dominante, quanto no modelo de herança dominante (tabela 2). Quando analisamos
181 essa associação utilizando graus de gravidade do TCAP (moderado/grave), somente o modelo
182 dominante mantém uma significância estatística ($p=0,05$). O polimorfismo LEPr 656 não
183 apresenta associação com TCAP, independente do modelo de herança.

184 Estraticamos a amostra em dois grupos de etnias auto-definidas (Grupo 1: brancos e
185 grupo 2: pretos, pardos, índios e amarelos) (38), essa avaliação serviu para se considerar outros
186 fatores genéticos que poderiam mascarar os efeitos desses genes no TCAP. Refletindo a
187 composição étnica do Rio Grande do Sul, a amostra continha 124 indivíduos auto definidos
188 como brancos e 50 auto-definidos como outras etnias. Somente no grupo 1 se observou que a
189 associação entre LEPR223 e TCAP se manteve ($p < 0,05$). Nos demais, essa associação não foi
190 mais identificada.

Discussão

A leptina é um hormônio envolvido na regulação do peso corporal, atuando mediante interação com seu receptor no sistema nervoso central. Ambas variantes polimórficas estudadas afetam a funcionalidade do receptor, com significativa redução de sua expressão, bem como modificam a transdução de seu sinal (18).

O objetivo desse estudo era analisar o potencial impacto de dois SNPs do gene LEPr no comportamento alimentar, através da sua eventual associação ao TCAP. Observamos uma associação entre LEPr 223 e TCAP, que não foi observada em relação ao LEPr 656. Em contrapartida, a variante LEPr 656 apresentou uma associação positiva com o IMC e IAC, demonstrando que, mesmo em obesos graves, esse polimorfismo se associa com o peso corporal. Historicamente, o alelo ancestral G do LEPr 656 estaria associado a valores inferiores de IMC (39), assim como revelam nossos resultados.

Outros estudos relatam associações de ambas variantes com IMC, circunferência da cintura, obesidade, percentual de gordura e outras medidas de adiposidade (7-14,40-42). Nosso estudo mostra associação entre LEPr 656 e IAC e, de forma inédita, LEPr 223 ao TCAP. A associação entre LEPr 223 e TCAP poderia explicar o porquê alguns pacientes obesos são mais suscetíveis à compulsão alimentar do que outros. Em indivíduos com o alelo ancestral A, o transtorno alimentar seria mais frequente. Uma possível explicação poderia ser relativa à teoria do genótipo “conservador ou poupador” (*Thrifty Genotype*).

Essa hipótese foi desenvolvida para explicar o rápido aumento do diabetes e da obesidade ao redor do mundo. A hipótese de "genótipo poupador" sugere que a obesidade, em parte, é relativa à seleção genética positiva para genes que favoreceram o armazenamento de energia, como consequência de períodos de abundância e escassez flutuantes; padrão alimentar típico vivido pelos nossos antepassados (43-45). Desta forma, os indivíduos que apresentam o alelo mutante do LEPr 223 (G), seriam um grupo com características mais evoluídas nessa questão, sendo que a presença desse polimorfismo seria um fator protetor em relação ao elevado consumo alimentar, que estaria associado aos períodos de abundância alimentar. Acreditamos que esse SNP impacta de forma significativa na regulação da ingestão alimentar.

Além disso, alteração na sinalização da leptina, provocada pelas variantes polimórficas em seu receptor, poderia ocasionar um estado de resistência a leptina, com consequente prejuízo à sinalização de saciedade e eventual instalação do fenótipo obeso. As variantes LEPr223 e LEPr 656 não possuem um papel claramente definido na gênese da obesidade (17), mas

254 amostras, especialmente em amostras de descendências diversas, podem auxiliar em uma
255 melhor explicação sobre esse tema, ainda tão incipiente.

256

257

Referências

258 1.Marti A, Berraondo B, Martinez JA. Leptin: physiological actions. *J Physiol Biochem* 1999;
259 55: 43–49.

260 2.Damcott CM, Sack P, Shuldiner AR. The genetics of obesity. *Endocrinol Metab Clin North*
261 *Am* 2003; 32:761–786.

262 3.Speakman JR. Obesity: The integrated roles of environment and genetics. *J Nutr* 2004; 134:
263 2090S–2105S.

264 4.Loos RJ, Bouchard C. Obesity—is it a genetic disorder? *J Intern Med* 2003; 254: 401–425.

265 5.Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005; 366: 1197–1209.

266 6.Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui
267 K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, Nakao K. Human leptin
268 receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or
269 association of sequence variants with obesity. *Diabetologia*. 1997 Oct;40(10):1204-10.

270 7.Yiannakouris N The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly
271 associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition
272 variability, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. *J Clin*
273 *Endocrinol Metab*. 2001 Sep;86(9):4434-9.

274 8.Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, Van Gaal LF,
275 Bouchard C. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution
276 in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001 May;25(5):714-20.

277 9.Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the
278 leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002
279 Sep;26(9):1179-85.

280 10.Portolés O, Sorlí JV, Francés F, Coltell O, González JI, Sáiz C, Corella D. Effect of genetic
281 variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-
282 based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol*. 2006;21(8):605-12

283 11.Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu VA, Cabello PH, Pimentel MM. LEPR p.Q223R,
284 beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. *Genet Mol*
285 *Res*. 2007 Oct 5;6(4):1035-43.

286 12.Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Deniz Ozsoy E, Ozata M. LEPR, ADBR3, IRS-1 and
287 5-HTT genes polymorphisms do not associate with obesity. *Endocr J*. 2007 Feb;54(1):89-94

- 288 13.Oliveira Rd, Cerda A, Genvigir FD, Sampaio MF, Armaganijan D, Bernik MM, Dorea EL,
289 Hirata MH, Hinuy HM, Hirata RD. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with
290 adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*
291 2013 Dec;57(9):677-84.
- 292 14.Chavarria-Avila E, Vázquez-Del Mercado M, Gomez-Bañuelos E, Ruiz-Quezada SL,
293 Castro-Albarran J, Sánchez-López L, Martín-Marquez BT, Navarro-Hernández RE. The Impact
294 of LEP G-2548A and LEPR Gln223Arg Polymorphisms on Adiposity, Leptin, and Leptin-
295 Receptor Serum Levels in a Mexican Mestizo Population. *Biomed Res Int.* 2015;2015:539408
- 296 15.Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional
297 sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest.* 1997 Jul 15;100(2):270-8.
- 298 16.Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J,
299 Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP. Evidence that the diabetes
300 gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db
301 mice. *Cell.* 1996 Feb 9;84(3):491-5.
- 302 17.Chua SC, Jr, White DW, Wu-Peng XS, et al. Phenotype of fatty due to Gln269Pro mutation
303 in the leptin receptor (*Lepr*). *Diabetes* 1996; 45: 1141–1143.
- 304 18.White DW, Wang DW, Chua SC Jr, Morgenstern JP, Leibel RL, Baumann H, Tartaglia LA.
305 Constitutive and impaired signaling of leptin receptors containing the Gln --> Pro extracellular
306 domain fatty mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Sep 30;94(20):10657-62.
- 307 19.Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism
308 (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in
309 postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet.* 2001 Mar;108(3):233-6
- 310 20.Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen
311 U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C,Donohoue PA, Burns TL,
312 Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt
313 MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ,Gropp E, Allison DB. A meta-analytic investigation
314 of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass
315 index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002 May;26(5):640-6
- 316 21.Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X. Genetic polymorphisms in adipokine genes
317 and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring).* 2012
318 Feb;20(2):396-406.
- 319 22.Ghalandari H, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P. The Association of Polymorphisms in
320 Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity
321 and the Related Metabolic Disturbances: A Review *Int J Endocrinol Metab.* 2015 Jul; 13(3):
322 e19073.
- 323 23.Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of Leptin and Obesity: A HUGE Review. *Am J*
324 *Epidemiol* 2005; 162(2): 101-114.

- 325 24.Heo M, Leibel RL, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen
326 A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR,
327 Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs
328 KB, Elston RC, Hoffman DJ, Allison DB. Pooling analysis of genetic data: the association of
329 leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics*.
330 2001 Nov;159(3):1163-78.
- 331 25.Bender N, Allemann N, Marek D, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Egger M, Bochud
332 M. Association between variants of the leptin receptor gene (LEPR) and overweight: a
333 systematic review and an analysis of the CoLaus study. *PLoS One*. 2011;6(10):e26157
- 334 26.American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5th.
335 In: 2 ed. 2013. p. 970.
- 336 27.Mascarenhas MTL, de Almeida MMG, Araújo TM De, Prisco APK. Transtornos
337 alimentares na população de 20 a 59 anos de Feira de Santana (BA), 2007. *Cad Saúde Colet*.
338 2011;19(2):179–86.
- 339 28.Prisco APK, de Araujo TM, de Almeida MMG, Santos KOB. [Prevalence of eating disorders
340 in urban workers in a city of the northeast of Brazil]. *Prevalencia transtornos Aliment em Trab*
341 *urbanos Munic do Nord do Bras* [Internet]. 2013;18(4):1109–18.
- 342 29.Horvath JDC, Kops NL, Dias de Castro ML, Friedman R. Food consumption in patients
343 referred for bariatric surgery with and without binge eating disorder . *Eating Behaviors*
344 2015;19:10–3.
- 345 30.Mitchell JE, King WC, Courcoulas A, Dakin G, Elder K, Engel S, et al. Eating behavior and
346 eating disorders in adults before bariatric surgery. *Int J Eat Disord* [Internet]. 2015;48(2):215–
347 22.
- 348 31. Marek RJ, Ben-Porath YS, Ashton K, Heinberg LJ. Impact of using DSM-5 criteria for
349 diagnosing binge eating disorder in bariatric surgery candidates: Change in prevalence rate,
350 demographic characteristics, and scores on the minnesota multiphasic personality inventory - 2
351 restructured form (MMPI-2-RF). *Int J Eat Disord* [Internet]. 2014;47(5):553–7.
- 352 32.R Miller, M Tanofsky-Kraff, L B Shomaker, S E Field, L Hannallah, S A Reina, M
353 Mooreville, N Sedaka, S M Brady, T Condarco, J C Reynolds SZY and JAY. Serum leptin and
354 loss of control eating in children and adolescents. *Int J Obes*. 2013.
- 355 33. Borges, MBF; Morgan, CM; Claudino, AM and Silveira, DX. Validation of the portuguese
356 version of the Questionnaire on Eating and Weight Patterns: revised (QEWPR) for the
357 screening of binge eating disorder. *Rev. Bras. Psiquiatr.* [online]. 2005, vol.27, n.4 [cited 2016-
358 04-21], pp.319-322.
- 359 34.Bergman RN. A better index of body adiposity. *Obesity* (Silver Spring). 2012
360 Jun;20(6):1135.
- 361 35. Ministério da Saúde. Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - Sisvan: orientações
362 básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde.

- 363 Brasília; Disponível em : [http://nutricao.saude.gov.br/](http://nutricao.saude.gov.br/documentos) documentos
364 /orientacoes_basicas_sisvan.pdf. Acesso em: 29/05/2014.
- 365 36. World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood: best practices in
366 phlebotomy. 2010;125p.
- 367 37. Rodriguez, S. Gaunt TR and Day, IMN. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological
368 Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol.* 2009 Feb 15; 169(4):
369 505–514.
- 370 38. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Características étnico-raciais da
371 população : um estudo das categorias de classificação de cor ou raça : 2008 / IBGE,
372 Coordenação de População e Indicadores Sociais. 99p. 2011
- 373 39. Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, Imrie H, Evans AL, Strosberg AD, McKeigue PM,
374 Scott J, Aitman TJ. Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white
375 British male population. *Hum Mol Genet.* 1997 Jun;6(6):869-76.
- 376 40. Furusawa T, Naka I, Yamauchi T, Natsuhara K, Kimura R, Nakazawa M, Ishida T, Inaoka
377 T, Matsumura Y, Ataka Y, Nishida N, Tsuchiya N, Ohtsuka R, Ohashi J. The Q223R
378 polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders. *Hum Genet.* 2010
379 Mar;127(3):287-94.
- 380 41. Sarzynski MA, Jacobson P, Rankinen T, Carlsson B, Sjöström L, Bouchard C, Carlsson LM.
381 Associations of markers in 11 obesity candidate genes with maximal weight loss and weight
382 regain in the SOS bariatric surgery cases. *Int J Obes (Lond).* 2011 May;35(5):676-83
- 383 42. Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ouedrani A, Ben Rejeb N, Nabli N, Ben
384 Abdelaziz A, Bouslama A. Relationship Between Leptin G2548A and Leptin Receptor Q223R
385 Gene Polymorphisms and Obesity and Metabolic Syndrome Risk in Tunisian Volunteers. *Genet
386 Test Mol Biomarkers.* 2012 Jul;16(7):726-33.
- 387 43. Prentice AM, Hennig BJ, Fulford AJ (2008) Evolutionary origins of the obesity epidemic:
388 natural selection of thrifty genes or genetic drift following predation release? *Int J Obes
389 (Lond)* 32: 1607–1610.
- 390 44. Koh XH, Liu X, Teo YY. Can evidence from genome-wide association studies and positive
391 natural selection surveys be used to evaluate the thrifty gene hypothesis in East Asians? *PLoS
392 One.* 2014 Oct 22;9(10):e110974
- 393 45. Genné-Bacon EA. Thinking evolutionarily about obesity. *Yale J Biol Med.* 2014 Jun
394 6;87(2):99-112.

1 **Associations of LEPr gene polymorphisms and the presence of BED in**
2 **severely obese subjects**

3
4 Artigo enviado à revista *Nutrition* em Março de 2017.

5 Fator de Impacto: 3.026 - Qualis: A2

6
7 **Abstract**

8 Objective: The aim of this study was to evaluate associations of LEPr gene
9 polymorphisms and the presence of BED in severely obese subjects.

10
11 Methods: A cross-sectional study conducted in 222 adults with severe obesity. Two
12 SNPs of LEPr were genotyped and analysed individually. Patients were interviewed and the
13 psychological instruments included the Binge Eating Scale (BES), the Questionnaire on Eating
14 and Weight Patterns (QEWPR), and the Structured Clinical Interview for DSM IV.

15
16 Results: Wild homozygous allele of LEPr 656 (GG) was found more often in the group
17 with BMI below the median ($p=0.038$). The same was seen in the group with body adiposity
18 index below the median ($p=0.030$). LEPr 223 was not associated with the anthropometric
19 variables in this study. LEPr 223 associated to BED in the co-dominant and dominant models
20 ($p<0.05$). LEPr 656 was not associated to BED in any of the models of inheritance.

21
22 Conclusion: In patients with marked obesity, LEPr 223 associates with BED, while
23 LEPr 656 associates with indexes of adiposity

24
25 Key Words: Obesity, Leptin Receptor, Binge Eating
26
27
28
29
30
31
32

Introduction

Since the leptin gene was identified, in 1994, progress has been made in the understanding of energy homeostasis (1). Several studies suggest that genes contribute significantly to the etiologic of obesity. Nevertheless, there is no consensus to date as to which genes would be candidate markers of genetic susceptibility for obesity (2-5). Due to their now well described role in obesity, the leptin (LEP) and leptin receptor (LEPr) genes seem to play an important role in the regulation of body weight and, therefore, a potential role in the development of obesity. (6-14).

Leptin is released from adipocytes as a signal of the body storage of fat. It acts as a satiety factor. Its receptor is located mainly in the hypothalamus, where food intake is regulated. Besides regulating satiety, leptin increases thermogenesis through the sympathetic autonomous nervous system (15). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the leptin gene result in a truncated protein, while SNPs of the LEPr gene result in a premature ending of the intracellular domain. In both cases, altered signalling results. (16).

Several polymorphic variants of the LEPr gene have been described to date (Figure 1), but only Gln223Arg (LEPr 223) and Lys656Asn (LEPr 656) cause electrical charge changes in aminoacids, and, therefore, are more likely to determine functional consequences to the receptor (17).

***Figure 1. Schematic representation of the LEPr gene and its protein structure.**

Both Gln223Arg (A>G) and Lys656Asn (G>C) are in the region coding for the extracellular domain of the leptin receptor. Therefore, alterations in these aminoacids affect the form of the receptor (18). The LEPr Gln223Arg polymorphism has been associated with a variation in the receptor binding capacity. Binding activity has been observed to be higher in individuals that are homozygous for the G allele in comparison to those carrying the A allele (19).

Nevertheless, the role of Gln223Arg and Lys656Asn in obesity is not yet clear enough. There is a vast number of conflicting results in the literature (20-25). For its role in the regulation of food intake, and a possible role in the genesis of obesity, a disturbance in the leptin receptor could be associated to eating disorders, such as anorexia, bulimia and binge-eating disorder (BED). BED (26) is more prevalent in patients with obesity than in the general

65 population. In Brazil, the prevalence of BED in the general population is in the range of 5% to
66 8.5% (27, 28). In patients with obesity, it varies between 15% and 50% (29, 30), and, after the
67 publication of the new criteria in DSM V, maybe even higher (31).

68 In patients with BED or loss of feeding control, leptin serum concentrations seem to be
69 higher, independently of fat mass (32). There are no studies addressing a possible association
70 of LEPr gene polymorphisms and eating disorders. A better understanding of these associations
71 could help clarify one aspect of the etiologic of obesity, perhaps helping in the identification of
72 high-risk subjects. The aim of this study was to evaluate associations of LEPr gene
73 polymorphisms and the presence of BED in severely obese subjects.

74

75

Methods

76 Every patient referred to Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA) for treatment of
77 severe obesity (grade III obesity, or grade II with com-morbidities) between January 2010 and
78 December 2013 was considered for the study. These individuals were referred from within the
79 State of Rio Grande do Sul, the southernmost province of Brazil. The population of Rio Grande
80 do Sul is multiracial and multi-ethnic, predominantly Portuguese in origin, with Italian, Spanish
81 and German ancestries also well represented. African, South American Indian, Spanish, Polish
82 and Arabic origins are less represented, yet contribute to the gene pool.

83 The Ethics Committee of HCPA approved the study (study number 110068,
84 CONEP/CAAE: 0015.0.001.000-11). All participants gave formal, written informed consent.

85 All patients were interviewed by a trained psychologist, and the psychological
86 instruments included the Binge Eating Scale (BES), the Questionnaire on Eating and Weight
87 Patterns (QEWP-R) (33), and the Structured Clinical Interview for DSM IV.

88 Anthropometric data:

89 Weight (kg, digital anthropometric scale, Filizolla, Brazil, in light indoor clothes),
90 height (m, wall stadiometer, Sanny, Brazil), abdominal circumference, and hip circumference
91 (cm, fiberglass tape, Wiso, Brazil) were obtained at the first clinic visit. Body mass index (BMI,
92 kg/m²) was calculated, as well as the body adiposity index (BAI) (34). All measurements
93 followed the guidelines of the Brazilian Ministry of Health (35).

94 Genetic analysis:

95 A 4 ml sample of peripheral blood was drawn in accordance with international standards
96 (36), and, immediately, frozen at 85°C. The polymorphisms of interest were detected by Real

97 Time DNA Amplification (ID C_30090620_10 assay, TaqMan® SNP genotyping Assays,
98 Applied Biosystems, CA, USA) in an ABI PRISM 7000 Real-time PCR system (Applied
99 Biosystems, CA, USA). The following amplification protocol was employed: one initial cycle
100 of 95°C for 15 seconds, and a final cycle of 60°C for 90 seconds. Genotype reading and data
101 interpretation were carried out with SDS 1.1 software (Applied Biosystems, CA, USA).

102 Statistical analysis:

103 Differences between observed and expected frequencies, assuming Hardy-Weinberg
104 equilibrium (37), were tested with the chi-square (χ^2) statistic. Variables not normally
105 distributed were log-transformed for comparisons. Alternatively, the appropriate nonparametric
106 tests were employed. Results are expressed as mean and standard deviation (SD), median and
107 interquartile range, or number (n) and percentage (%).

108 Additional analyses were carried out after stratification. Each polymorphism was
109 evaluated in 3 categories: wild homozygous, heterozygous or polymorphic homozygous.
110 Therefore, the co-dominant inheritance model was analysed. The dominant model was assessed
111 through the presence of the polymorphic allele in either homozygosis or heterozygosis. Then
112 recessive model was analysed through the presence of the polymorphic allele in homozygosis
113 only. The sample was also stratified by BMI as below the median (LOW.IMC) or equal to or
114 above the median, (HIGH.IMC) for evaluation of genetic differences.

115 The chi-square statistic was employed to analyse the association between qualitative
116 variables, like genetic inheritance profiles, BMI categories, or BED. Student's t-test, or Mann-
117 Whitney's U compared variables in the dominant and recessive models. ANOVA with Tukey's
118 post-hoc statistic were used to test for differences in the co-dominant model. Values of $p < 0.05$
119 were considered as statistically significant. SPSS v. 18 (SPSS, Chicago, IL, USA) was used to
120 perform the statistical tests.

121 **Results**

122 Two-hundred and twenty-two patients gave informed consent and were included in the
123 sample. One-hundred and seventy-four had LEPr223 and 176 had just LEPr 656. The genotype
124 frequencies of LEPr 656 were in Hardy-Weinberg equilibrium ($\chi^2 = 2.28$ $p > 0.05$), whereas those
125 of LEPr 223 were not ($\chi^2 = 5.39$ $P < 0.005$) (table 1).

126 In this sample, the wild homozygous allele of LEPr 656 (GG) was found more often in
127 the group with BMI below the median ($p = 0.038$). The same was seen in the group with body

128 adiposity index below the median ($p=0.030$). LEPr 223 was not associated with the
129 anthropometric variables in this study.

130 The frequency of BED in this sample of patients with severe obesity was 47.3% (and
131 24.4% had the severe form). Although only 169 subjects had all the psychological tests done,
132 SCID results showed that 32.7% had current depression, 64.1% had previously some degree of
133 depression. As expected, depression (both current and past) associated with BED ($p=0.005$ for
134 current depression, and $p<0.001$ for past depression). Table 2 depicts the genotype frequencies
135 according to the presence of BED. LEPr 223 associated to BED both in the co-dominant and
136 dominant models (Table 2). When BED was stratified according to the severity (moderate vs
137 severe), only the dominant model retained statistical significance ($p=0.05$). LEPr 656 was not
138 associated to BED in any of the models of inheritance.

139 This sample of patients contained 124 subjects auto-defined as white, and 50 auto-
140 defined as other (Mixed, Black, Indian, Japanese, Chinese), reflecting the approximate
141 racial/ethnic background of our region. Only in the sub-group self-defined as white did the
142 association between LEPr 223 and BED hold significance ($p<0.05$). In the other sub-group, the
143 association was no longer identified.

144

145 **Discussion**

146 Leptin is involved in the regulation of body weight through signalling the central
147 nervous system via its specific receptor. Both polymorphisms we analyse affect the
148 functionality of the receptor, reducing its expression, and modifying the transduction of the
149 leptin signal (18).

150 The aim of this study was to a potential association of two SNPs of the LEPr gene with
151 BED, and its eventual impact on the feeding behaviour. We did observe an association of LEPr
152 223 – but not of LEPr 656 - and BED.

153 On the other hand, LEPr 656 did associate with BMI and body adiposity index. The
154 ancestral allele (G) of LEPr 656 has been associated to lower values of BMI (39), which tends
155 to corroborate our finding of a more frequent finding of the mutant allele in obese subjects (39).

156 Our finding of an association of LEPr 223 to BED is quite original. The finding of an
157 association of LEPr 656 and BMI/ body adiposity index (BAI) confirms previous findings.
158 Previous studies have reported on associations of both LEPr 223 and LEPr 656 with BMI,
159 abdominal circumference, obesity, and other measures of adiposity (7-14,40-42). Speculatively,

160 as association between the wild allele A of LEPr 223 and BED could explain why some patients
161 with obesity are more susceptible to eating disorders that make their treatment more difficult.

162 The “Thrifty Genotype” hypothesis was presented as an attempt to explain the rapid rise
163 in the prevalence of obesity and diabetes mellitus. It suggests that obesity might be partly related
164 to a genetic selection of genes favouring energy conservation, as a consequence of intermittent
165 periods of lack of food (43-45). Individuals presenting the mutant G allele of LEPr 223 would
166 be a group less prone to eating in times of abundance. An alteration in leptin signalling, caused
167 by wild allele of its receptor, could imply a state of resistance to leptin, with a consequent
168 deleterious effect on satiety and eventual gain of weight and adipose mass.

169 The roles of LEPr 223 and LEPr 656 in the genesis of obesity is not clear (17). Subtle,
170 long-term effects of these genes variants could be associated with a predisposition for more
171 severe forms of obesity. Nevertheless, environmental factors, multiple gene interactions and
172 other, still unclear, factors still make it very difficult to highlight these relationships.

173 Our sample is admittedly limited in size. This made it very difficult to explore the
174 question of race/ethnic background. The association of LEPr 223 and BED was confirmed in
175 whites, the largest group. Based on our sample, it is not possible, at the moment, to make any
176 assumptions on race, BED, and LEPr. Our findings allow us to say that an association of LEPr
177 223 and BED was found in subjects with obesity, and that this association holds in white
178 subjects. To study other races, larger samples are required.

179 Our sample was not in Hardy-Weinberg equilibrium for LEPr 223. This may be due to
180 the fact that our subjects were all affected by the disease of interest (obesity). Mergen and
181 colleagues (12), studying LEPr 223, did also find a H-W disequilibrium in their sample of
182 subjects with obesity, reinforcing the idea that, in obese patients, such situation would be
183 expected. Nevertheless, this reduces the value of the association found (12).

184 On the other hand, this sample is singular in containing severely obese patients, with a
185 high prevalence of BED and of mutations of these SNPs. We still must recommend caution
186 when assuming the association of LEPr 223 with eating control, due to both the sample size
187 and the observed lack of H-W equilibrium. But our results do suggest that patients with BED
188 should be seen as a subtype of obesity, with a perhaps different genetic foundation that renders
189 them more vulnerable to weight gain in an environment abundant in calorie-dense, easily
190 accessible foods.

191

192

Conclusion

193

194

195

196

197

In patients with marked obesity, LEPr 223 associates with BED, while LEPr 656 associates with indexes of adiposity. Studies of these associations in different, larger, and racially/ethnically different samples are need to better explore these potential associations.

References

198

199

200

201

202

203

204

205

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

225

1. Marti A, Berraondo B, Martinez JA. Leptin: physiological actions. *J Physiol Biochem* 1999; 55: 43–49.
2. Damcott CM, Sack P, Shuldiner AR. The genetics of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32:761–786.
3. Speakman JR. Obesity: The integrated roles of environment and genetics. *J Nutr* 2004; 134: 2090S–2105S.
4. Loos RJ, Bouchard C. Obesity—is it a genetic disorder? *J Intern Med* 2003; 254: 401–425.
5. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005; 366: 1197–1209.
6. Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, Nakao K. Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. *Diabetologia*. 1997 Oct;40(10):1204-10.
7. Yiannakouris N The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Sep;86(9):4434-9.
8. Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, Van Gaal LF, Bouchard C. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001 May;25(5):714-20.
9. Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 Sep;26(9):1179-85.
10. Portolés O, Sorlí JV, Francés F, Coltell O, González JI, Sáiz C, Corella D. Effect of genetic variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol*. 2006;21(8):605-12
11. Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu VA, Cabello PH, Pimentel MM. LEPR p.Q223R, beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. *Genet Mol Res*. 2007 Oct 5;6(4):1035-43.

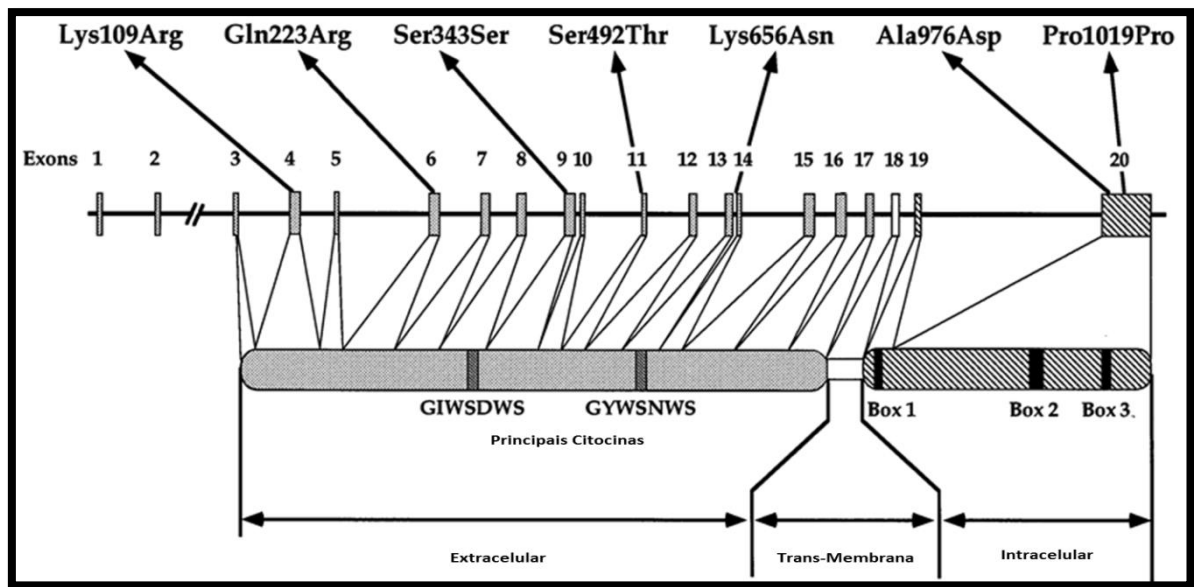
- 226 12. Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Deniz Ozsoy E, Ozata M. LEPR, ADBR3, IRS-1 and
227 5-HTT genes polymorphisms do not associate with obesity. *Endocr J.* 2007 Feb;54(1):89-94
- 228 13. Oliveira Rd, Cerda A, Genvigir FD, Sampaio MF, Armaganijan D, Bernik MM, Dorea EL,
229 Hirata MH, Hinuy HM, Hirata RD. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with
230 adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*
231 2013 Dec;57(9):677-84.
- 232 14. Chavarria-Avila E, Vázquez-Del Mercado M, Gomez-Bañuelos E, Ruiz-Quezada SL,
233 Castro-Albarran J, Sánchez-López L, Martín-Marquez BT, Navarro-Hernández RE. The Impact
234 of LEP G-2548A and LEPR Gln223Arg Polymorphisms on Adiposity, Leptin, and Leptin-
235 Receptor Serum Levels in a Mexican Mestizo Population. *Biomed Res Int.* 2015;2015:539408
- 236 15. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional
237 sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest.* 1997 Jul 15;100(2):270-8.
- 238 16. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J,
239 Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP. Evidence that the diabetes
240 gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db
241 mice. *Cell.* 1996 Feb 9;84(3):491-5.
- 242 17. Chua SC, Jr, White DW, Wu-Peng XS, et al. Phenotype of fatty due to Gln269Pro mutation
243 in the leptin receptor (Lepr). *Diabetes* 1996; 45: 1141–1143.
- 244 18. White DW, Wang DW, Chua SC Jr, Morgenstern JP, Leibel RL, Baumann H, Tartaglia LA.
245 Constitutive and impaired signaling of leptin receptors containing the Gln --> Pro extracellular
246 domain fatty mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Sep 30;94(20):10657-62.
- 247 19. Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism
248 (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in
249 postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet.* 2001 Mar;108(3):233-6
- 250 20. Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen
251 U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL,
252 Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt
253 MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ, Groppe E, Allison DB. A meta-analytic investigation
254 of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass
255 index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002 May;26(5):640-6
- 256 21. Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X. Genetic polymorphisms in adipokine genes
257 and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring).* 2012
258 Feb;20(2):396-406.
- 259 22. Ghalandari H, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P. The Association of Polymorphisms in
260 Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity
261 and the Related Metabolic Disturbances: A Review *Int J Endocrinol Metab.* 2015 Jul; 13(3):
262 e19073.
- 263 23. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of Leptin and Obesity: A HUGE Review. *Am J*
264 *Epidemiol* 2005; 162(2): 101-114.

- 265 24. Heo M, Leibel RL, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen
266 A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR,
267 Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs
268 KB, Elston RC, Hoffman DJ, Allison DB. Pooling analysis of genetic data: the association of
269 leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics*.
270 2001 Nov;159(3):1163-78.
- 271 25. Bender N, Allemann N, Marek D, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Egger M, Bochud
272 M. Association between variants of the leptin receptor gene (LEPR) and overweight: a
273 systematic review and an analysis of the CoLaus study. *PLoS One*. 2011;6(10):e26157
- 274 26. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders
275 5th. In: 2 ed. 2013. p. 970.
- 276 27. Mascarenhas MTL, de Almeida MMG, Araújo TM De, Prisco APK. Transtornos
277 alimentares na população de 20 a 59 anos de Feira de Santana (BA), 2007. *Cad Saúde Colet*.
278 2011;19(2):179–86.
- 279 28. Prisco APK, de Araujo TM, de Almeida MMG, Santos KOB. [Prevalence of eating
280 disorders in urban workers in a city of the northeast of Brazil]. *Prevalencia transtornos Aliment*
281 *em Trab urbanos Munic do Nord do Bras* [Internet]. 2013;18(4):1109–18.
- 282 29. Horvath JDC, Kops NL, Dias de Castro ML, Friedman R. Food consumption in patients
283 referred for bariatric surgery with and without binge eating disorder . *Eating Behaviors*
284 2015;19:10–3.
- 285 30. Mitchell JE, King WC, Courcoulas A, Dakin G, Elder K, Engel S, et al. Eating behavior and
286 eating disorders in adults before bariatric surgery. *Int J Eat Disord* [Internet]. 2015;48(2):215–
287 22.
- 288 31. Marek RJ, Ben-Porath YS, Ashton K, Heinberg LJ. Impact of using DSM-5 criteria for
289 diagnosing binge eating disorder in bariatric surgery candidates: Change in prevalence rate,
290 demographic characteristics, and scores on the minnesota multiphasic personality inventory - 2
291 restructured form (MMPI-2-RF). *Int J Eat Disord* [Internet]. 2014;47(5):553–7.
- 292 32. R Miller, M Tanofsky-Kraff, L B Shomaker, S E Field, L Hannallah, S A Reina, M
293 Mooreville, N Sedaka, S M Brady, T Condarco, J C Reynolds SZY and JAY. Serum leptin and
294 loss of control eating in children and adolescents. *Int J Obes*. 2013.
- 295 33. Borges, MBF; Morgan, CM; Claudino, AM and Silveira, DX. Validation of the portuguese
296 version of the Questionnaire on Eating and Weight Patterns: revised (QEWPR) for the
297 screening of binge eating disorder. *Rev. Bras. Psiquiatr.* [online]. 2005, vol.27, n.4 [cited 2016-
298 04-21], pp.319-322.
- 299 34. Bergman RN. A better index of body adiposity. *Obesity* (Silver Spring). 2012
300 Jun;20(6):1135.
- 301 35. Ministério da Saúde. Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - Sisvan: orientações
302 básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde.

- 303 Brasília; Disponível em : [http://nutricao.saude.gov.br/](http://nutricao.saude.gov.br/documentos) documentos
304 /orientacoes_basicas_sisvan.pdf. Acesso em: 29/05/2014.
- 305 36. World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood: best practices in
306 phlebotomy. 2010;125p.
- 307 37. Rodriguez, S. Gaunt TR and Day, IMN. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological
308 Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol.* 2009 Feb 15; 169(4):
309 505–514.
- 310 38. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Características étnico-raciais da
311 população : um estudo das categorias de classificação de cor ou raça : 2008 / IBGE,
312 Coordenação de População e Indicadores Sociais. 99p. 2011
- 313 39. Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, Imrie H, Evans AL, Strosberg AD, McKeigue PM,
314 Scott J, Aitman TJ. Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white
315 British male population. *Hum Mol Genet.* 1997 Jun;6(6):869-76.
- 316 40. Furusawa T, Naka I, Yamauchi T, Natsuhara K, Kimura R, Nakazawa M, Ishida T, Inaoka
317 T, Matsumura Y, Ataka Y, Nishida N, Tsuchiya N, Ohtsuka R, Ohashi J. The Q223R
318 polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders. *Hum Genet.* 2010
319 Mar;127(3):287-94.
- 320 41. Sarzynski MA¹, Jacobson P, Rankinen T, Carlsson B, Sjöström L, Bouchard C, Carlsson
321 LM. Associations of markers in 11 obesity candidate genes with maximal weight loss and
322 weight regain in the SOS bariatric surgery cases. *Int J Obes (Lond).* 2011 May;35(5):676-83
- 323 42. Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ouedrani A, Ben Rejeb N, Nabli N, Ben
324 Abdelaziz A, Bouslama A. Relationship Between Leptin G2548A and Leptin Receptor Q223R
325 Gene Polymorphisms and Obesity and Metabolic Syndrome Risk in Tunisian Volunteers. *Genet
326 Test Mol Biomarkers.* 2012 Jul;16(7):726-33.
- 327 43. Prentice AM, Hennig BJ, Fulford AJ (2008) Evolutionary origins of the obesity epidemic:
328 natural selection of thrifty genes or genetic drift following predation release? *Int J Obes (Lond)*
329 32: 1607–1610.
- 330 44. Koh XH, Liu X, Teo YY. Can evidence from genome-wide association studies and positive
331 natural selection surveys be used to evaluate the thrifty gene hypothesis in East Asians? *PLoS
332 One.* 2014 Oct 22;9(10):e110974
- 333 45. Genné-Bacon EA. Thinking evolutionarily about obesity. *Yale J Biol Med.* 2014 Jun
334 6;87(2):99-112.
- 335
336
337
338
339

340

Figure 1. Schematic representation of the LEPr gene and its protein structure.



341

342

343

Adapted from Matsuoka N et al., Diabetologia 1997 (6).

Table 1. Genotype frequencies and inheritance models by BMI.

	Total % (n)	LOW.IMC % (n)	HIGH.IMC % (n)	P
LEPr 223 (n=174) Co-Dominant Model				
AA	24.7 (43)	44.2 (19)	55.8 (24)	0.683
AG	40.8 (71)	52.1 (37)	47.9 (34)	
GG	34.5 (60)	51.7 (31)	48.3 (29)	
LEPr 223 (n=174) Recessive Model				
AG + AA	65.5 (114)	49.1 (56)	66.7 (58)	0.750
GG	34.5 (60)	51.7 (31)	48.3 (29)	
LEPr 223 (n=174) Dominant Model				
AA	24.7 (43)	44.2 (19)	55.8 (24)	0.380
GG + AG	75.3 (131)	78.2 (68)	72.4 (63)	
LEPRr 656 (n=176) Co-Dominant Model				
GG	36.4 (64)	60.9 (39)	39.1 (25)	0.057
CG	43.2 (76)	40.8 (31)	59.2 (45)	
CC	20.5 (36)	52.8 (19)	47.2 (17)	
LEPRr 656 (n=176) Recessive Model				
CG + GG	79.5 (140)	50.0 (70)	50.0 (70)	0.766
CC	20.5 (36)	52.8 (19)	47.2 (17)	
LEPRr 656 (n=176) Dominant Model				
GG	36.4 (64)	60.9 (39)	39.1 (25)	0.038
CC + CG	63.6 (112)	44.6 (50)	55.4 (62)	

Table 2. Genotype frequencies and models of inheritance according to the presence of BED.

	Total % (n)	BED (+)	BED (-)	P
LEPr 223 (n 169) Co-Dominant Model				
AA	23.1 (39)	61.5 (24)	38.5 (15)	0.049*
AG	42.0 (71)	39.4 (28)	60.6 (43)	
GG	34.9 (59)	39.0 (23)	61.0 (36)	
LEPr 223 (n 169) Recessive Model				
AA + AG	65.1 (110)	47.3 (52)	52.7 (58)	0.301
GG	34.9 (59)	39.0 (23)	61.0 (36)	
LEPr 223 (n 169) Dominant Model				
AA	23.1 (39)	61.5 (24)	38.5 (15)	0.014*
AG + GG	76.9 (130)	39.2 (51)	60.8 (79)	
LEPr 656 (n 171) Co-Dominant Model				
GG	35.1 (60)	45.0 (27)	55.0 (33)	0.687
CG	43.9 (75)	41.3 (31)	58.7 (44)	
CC	21.1 (36)	50 (18)	50 (18)	
LEPr 656 (n 171) Recessive Model				
GG + CG	78.9 (135)	43.0 (58)	57.0 (77)	0.450
CC	21.1 (36)	50.0 (18)	50.0 (18)	
LEPr 656 (n 171) Dominant Model				
GG	35.1 (60)	45.0 (27)	55.0 (33)	0.914
CG + CC	64.9 (111)	44.1 (49)	55.9 (62)	

345

346

Capítulo III

Efeito somatório dos polimorfismos do LEPr (rs1137101 e rs8179183), FTO (rs9939609) a padrões alimentares e TCAP em obesos mórbidos.

Jaqueline Driemeyer Correia Horvath ^{1,3}

Natália Luiza Kops ^{1,3}

Mariana Laitano Dias de Castro Heredia ^{1,3}

Fabiana Silva da Costa^{1,3}

Rogério Friedman ^{1,3,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia-UFRGS

² Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – Graduação em Nutrição - UCS

³ Serviço de Endocrinologia – Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA

⁴ Departamento de Medicina Interna – FAMED-UFRGS

Endereço para correspondência:

Jaqueline Driemeyer Correia Horvath

Universidade de Caxias do Sul

Centro de Ciências da Saúde - Graduação Nutrição

Campus Sede: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 - CEP 95070-560 - Caxias do Sul

Fone: (+5554) 3218-2100

Cel: (+5551) 94159474

Email: nut.jaquelinehorvath@gmail.com

Resumo

Objetivo: Avaliar a associação conjunta de polimorfismos do LEPr e FTO sobre o TCAP e sobre o consumo alimentar de indivíduos gravemente obesos.

Métodos: Um estudo transversal com 222 indivíduos adultos gravemente obesos foi conduzido. Dois SNPs do LEPr (LEPr 223 e LEPr 656) e um SNP do FTO (rs9939609) foram genotipados e analisados. Os pacientes eram entrevistados e submetidos a aplicação de questionários, incluindo escala de compulsão alimentar periódica (ECAP), questionário de padrões de alimentação e peso revisado (QEWPR) e entrevista estruturada para avaliação de doenças do DSM IV (SCID). Além de realizarem avaliação antropométrica, de consumo alimentar e avaliação clínica.

Resultados: Foram avaliados 222 indivíduos, sendo que 174 participantes completaram todas as avaliações. Quando analisados em conjunto, os genótipos dos três genes avaliados se associaram com o TCAP, tanto como resposta binária ($p=0,023$ - GLMz - Teste de Omnibus) quanto como resposta ordinal ($p=0,011$ - GLMz - Teste de Omnibus). O principal efeito genético foi o baseado na interação LEPr 223 e LEPr 656, sendo que mesmo com a retirada do FTO rs9939609 do modelo, esse mantinha significância estatística. Ainda, o consumo calórico é afetado somente pelos genótipos dos polimorfismos do LEPr ($p<0,037$ - GLMz - Teste de Omnibus), sendo, a interação LEPr 223(AA) e LEPr 656 (GC) a de maior impacto

Conclusão: A genética parece desempenhar um papel no reconhecimento de pacientes obesos de maior risco. Nosso estudo demonstra que os SNPs do LEPr 223 e LEPr 656 impactam no TCAP e consumo calórico de pacientes obesos, especialmente o LEPr 223 (AA), podendo vir a ser um importante marcador de risco desses indivíduos.

Palavras chaves: Receptor de Leptina, TCAP, FTO

Introdução

57

58 Desde a identificação do gene da leptina, em 1994, progressos importantes têm sido
59 feitos na compreensão da regulação da homeostase energética (1). Apesar do fato de que
60 numerosos estudos sugerirem uma contribuição genética importante na etiologia de obesidade,
61 até o momento, não há consenso de quais genes poderiam ser candidatos a marcadores de
62 susceptibilidade genética de forma mais definitiva (2-5). No entanto, devido ao seu papel já
63 descrito na obesidade, os genes de leptina (LEP) e o receptor de leptina (LEPr) têm-se mostrado
64 fundamentais na regulação do peso corporal e no desenvolvimento da obesidade (6-14).

65 A leptina é liberada dos adipócitos como um sinal do estoque de gordura corporal e atua
66 como um fator de saciedade, já que o seu receptor é localizado principalmente no hipotálamo,
67 uma área do cérebro conhecida por estar envolvida na regulação da ingestão de alimentos. Além
68 de regular a saciedade, a leptina também aumenta a termogênese através do sistema nervoso
69 simpático e, através do aumento da síntese da proteína desacopladora mitocondrial termogenina
70 (produto do gene UCP1) (15-16).

71 Mutações de um único nucleotídeo (SNPs) no gene da leptina resultam em uma proteína
72 truncada ou SNPs do gene do receptor de leptina (LEPr) resultam em uma terminação prematura
73 do domínio intracelular; em ambos casos há alteração na sinalização (17). Diversas variantes
74 polimórficas no gene LEPr foram descritas, mas apenas Gln223Arg e Lys656Asn acarretam
75 mudanças de carga (18) e são, portanto, mais susceptíveis de terem consequências funcionais.

76 Especialmente o polimorfismo Gln223Arg (A>G), que se encontra na região
77 codificadora do domínio extracelular do receptor da leptina e, essa alteração afeta a estrutura
78 do receptor (19). Devido a isso, esse polimorfismo está associado com uma variação na
79 capacidade de ligação do receptor de leptina; níveis mais elevados de atividade de ligação foram
80 observados em indivíduos homocigóticos para o alelo G do que nos portadores do alelo A (20).

81 Embora haja evidências que nos levem a acreditar em um papel relevante desses SNPs,
82 o papel dessas variantes na obesidade ainda não está esclarecido, com uma vasta gama de
83 resultados conflitantes publicados na literatura (21-26). Outro gene importante quando se trata
84 de genética de obesidade é o *Fat Mass and Obesity Related* (FTO). Diversas evidências ao
85 longo dos 10 anos desde a sua descoberta, mostram que o FTO desempenha um papel
86 fundamental na regulação do desenvolvimento do tecido adiposo e funções no tamanho e
87 composição do corpo (27).

88 Apesar de ser amplamente estudado, apenas algumas pesquisas exploraram a associação
89 entre as variantes FTO e a regulação de vias neuronais (28). Estudos experimentais indicam
90 que o mRNA de FTO é altamente expresso em áreas cerebrais importantes para a regulação do
91 consumo de energia e recompensa (29). Hess e colaboradores demonstraram que FTO é
92 expresso em neurônios dopaminérgicos onde interage com respostas comportamentais
93 dependente do receptor de dopamina, sem afetar, necessariamente, o peso corporal. Assim,
94 especula-se que variantes FTO podem afetar o sistema de recompensa (30).

95 Além disso, Qi e colaboradores sugeriram que o FTO faz parte de uma via que medeia
96 a neuro-regulação da ingestão de alimentos, com o bloqueio do sinal de leptina (31). Mais
97 recentemente, Stratigopoulos e colaboradores mostraram que FTO regulava a translocação do
98 LEPr para membrana basal e posteriormente modulava a resposta celular à leptina (32).

99 As evidências apontam para uma possível relação entre FTO/LEPr, bem como para
100 associações com desses genes com o controle alimentar. Hipoteticamente, um distúrbio nesses
101 genes associados ao controle alimentar no hipotálamo, poderia estar associado a transtornos
102 alimentares, como o transtorno de compulsão alimentar periódica (TCAP) (33).

103 O TCAP é mais prevalente em obesos do que na população em geral. No Brasil, a
104 prevalência de TCAP para a população varia de 5% a 8,5%, (34). Já os estudos que estimaram
105 a prevalência do TCAP em obesos, referem valores de 15 a 50% (35, 36). Após a alteração dos
106 critérios do DSM IV para o DSM V, aparentemente, essas prevalências podem ser, ainda,
107 superiores (37). Ainda, não há estudos de associação dos polimorfismos do receptor de leptina
108 e FTO com transtornos alimentares e padrões alimentares. Assim, o objetivo desse estudo é
109 avaliar a associação conjunta de polimorfismos sobre o TCAP e sobre o consumo alimentar de
110 indivíduos gravemente obesos.

111

112

Métodos

113 Os indivíduos que constituem nossa amostra foram encaminhados ao Hospital de
114 Clínicas de Porto Alegre de diversas localidades do estado do Rio Grande do Sul para o
115 tratamento de obesidade. A amostra era composta por indivíduos de diversas descendências e
116 etnias, assim, pode ser considerada uma amostra aleatória da população. Todos os indivíduos
117 passaram por uma avaliação psicológica através da escala de compulsão alimentar periódica
118 (ECAP), questionário de padrões de alimentação e peso revisado (QEWPR) (37) e entrevista
119 estruturada para avaliação de doenças do DSM IV (SCID). Todos os instrumentos de avaliação

120 psicológica foram aplicados por um psicólogo treinado. Todos os participantes assinaram um
121 consentimento informado. O comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre aprovou
122 o estudo sob o número de registro 110068 e CONEP/CAAE: 0015.0.001.000-11.

123 **Análise Nutricional:**

124 A avaliação nutricional se deu através de medidas antropométricas. Estas
125 compreenderam: peso, estatura, circunferência abdominal (CA) e circunferência do quadril
126 (CQ). O peso (kg) foi aferido em balança antropométrica digital (Filizolla®, Brasil), com
127 sensibilidade de 0,1 kg, com roupas leves e sem calçados. A estatura (m) foi medida em
128 estadiômetro de parede (Sanny®, Brasil) e as circunferências com fita métrica inelástica, de
129 fibra de vidro (Wiso®, Brasil). O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o
130 peso pelo quadrado da estatura. Todas as aferições seguiram as recomendações do Sistema de
131 Vigilância Alimentar e Nutricional do Ministério da Saúde (39). O consumo alimentar foi
132 mensurado através de registro alimentar pesado, sendo, então, os nutrientes calculados através
133 do software de nutrição *Nutribase* versão 7.18, essa metodologia é amplamente utilizada por
134 nosso grupo (35, 40).

135 **Análise clínica e laboratorial:**

136 A avaliação laboratorial consistiu em dosagens séricas de triglicerídeos (TG), colesterol
137 total (Col. T) (ambas por método enzimático colorimétrico, Hitachi 917, Roche, Brasil);
138 colesterol HDL (HDLc) (método enzimático colorimétrico homogêneo, Hitachi 917, Roche,
139 Brasil); colesterol LDL (LDLc) estimado através da fórmula de Friedewald (41); a glicose
140 plasmática foi medida por método enzimático colorimétrico oxidase (Hitachi 917, Roche,
141 Brasil); hemoglobina glicada (A1c%), por imunoturbidimetria (Hitachi 917, Roche, Brasil) e
142 insulina por eletro-quimioluminescência (ECLIA) (Modular E-170, Roche, Brasil).

143 A história clínica dos pacientes foi obtida através de anamnese e consulta ao prontuário
144 médico. Foram considerados como portadores de diabetes aqueles em uso de medicamentos
145 anti-hiperglicemiantes ou insulina e/ou com história clínica positiva da doença; pacientes sem
146 diagnósticos prévios eram avaliados conforme determinado pela Diretriz da Sociedade
147 Brasileira de Diabetes (42). Foram considerados pacientes hipertensos aqueles em uso de
148 medicamentos anti-hipertensivos e/ou com história clínica positiva da doença, pacientes sem
149 diagnósticos prévios foram avaliados conforme determinado pela Diretriz Brasileira de
150 Hipertensão (43).

151 **Análise Genética:**

152 Uma amostra de sangue periférico (4 ml) foi coletada, conforme padrões internacionais
153 (44) e, imediatamente, congelada a -85°C. A detecção dos polimorfismos foi realizada por
154 amplificação de DNA em tempo real (Ensaio ID C_30090620_10; TaqMan® SNP genotyping
155 Assays, Applied Biosystems, CA, USA). Em equipamento ABI PRISM 7000 Real-time PCR
156 system (Applied Biosystems, CA, USA).

157 O seguinte protocolo de amplificação foi empregado: um ciclo inicial de 95°C por 10
158 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, e um ciclo final de 60°C por 1,5
159 minutos. Após a amplificação, a interpretação dos dados e a leitura do genótipo foram realizadas
160 através do software SDS 1.1 (Applied Biosystems, CA, USA). Foram avaliados os SNPs
161 Gln223Arg (A > G; rs1137101), Lys656Asn (G > C; rs8179183 recentemente incorporado ao
162 rs1805094) e FTO (A > T; rs9939609).

163 **Análise Estatística:**

164 Testes qui quadrado (χ^2) foram usados para testar diferenças entre as frequências
165 esperadas e observadas, assumindo o equilíbrio de Hardy-Weinberg (45). As variáveis tiveram
166 suas normalidades testadas através do teste de Kolmogorov-Smirnov; para aquelas com
167 distribuição não Gaussiana, foram utilizados testes não paramétricos. Os resultados são
168 expressos como média e desvio padrão (DP), mediana e intervalo interquartil ou como número
169 ou percentual (%) de pacientes com a característica analisada.

170 Cada polimorfismo foi avaliado nos três modelos de herança: co-dominante
171 (homozigoto selvagem, heterozigoto, homozigoto polimórfico); dominante: (alelo polimórfico
172 em homozigose ou heterozigose) e recessivo (alelo polimórfico somente em homozigose).
173 Foram utilizados o teste *one way* ANOVA (post Hoc Tukey) para comparações de
174 características clínicas, antropométricas e nutricionais no modelo co-dominante. O teste T de
175 Student ou o teste de U de Mann-Whitney foram aplicados para avaliar as diferenças entre as
176 variáveis no modelo dominante e recessivo.

177 Utilizamos modelos lineares generalizados (GLMz) para analisar o efeito aditivo de
178 cada SNPs avaliado ao TCAP, foi incluído em todos os modelos a co-variável índice de massa
179 corporal e os fatores gênero e presença ou ausência de depressão atual. A variável de resposta
180 (TCAP) foi analisada usando ajuste de resposta ordinal (grau ausente, moderado e grave) e
181 binário (presença ou ausência do transtorno). Em cada modelo de resposta foram testados os

182 SNPs avaliando cada modelo genético acima descrito, sendo utilizados modelos fatoriais para
183 a análise do efeito aditivo de cada SNPs ao GLMz.

184 Também utilizamos GLMz para analisar o efeito aditivo de cada SNPs ao padrão de
185 consumo alimentar, analisando-se, consumo calórico e a resposta ao consumo de cada
186 macronutriente em relação aos SNPs. Nos modelos em que analisados o consumo dos
187 macronutrientes, o consumo calórico e a variável peso foram utilizadas como co-variáveis, no
188 modelo visando seu ajuste; quando se avaliou o consumo calórico, somente a variável peso foi
189 utilizada como co-variável. Foram considerados estatisticamente significativos valores de
190 $P < 0,05$. O software utilizado para fazer as análises foi o SPSS v.21 (SPSS, Chicago, IL, USA).

191

192

Resultados

193 Foram avaliados 222 indivíduos, sendo que 174 participantes completaram todas as
194 avaliações. As frequências genótípicas do polimorfismo LEPr 656 estavam conforme o
195 esperado, segundo equilíbrio de Hardy e Weinberg ($\chi^2 = 2,28$ $p > 0,05$), bem como as frequências
196 genótípicas do FTO rs9939609 ($\chi^2 = 3,65$ $p > 0,05$); já em relação ao polimorfismo LEPr 223, as
197 frequências genótípicas estavam em desequilíbrio ($\chi^2 = 5,39$ $P < 0,005$). As frequências
198 genótípicas dos SNPs avaliados encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Frequências dos alelos

Genótipo	LEPr 223	LEPr 656	FTO rs9939609
11	24,7	36,4	36,3
12	40,8	43,2	41,9
22	34,5	20,5	21,9

199

Legenda: 11 Homozigoto Selvagem; 12 Heterozigoto; 22 Homozigoto polimórfico. Dados apresentados como
200 porcentagem de sujeitos com a característica.

201

202

203

Essa amostra era majoritariamente do gênero feminino (78,8%), sendo a frequência de
hipertensão a comorbidade mais comum a esses indivíduos (72,1%). A segunda mais frequente
é a presença de TCAP (47,3%), seguida de diabetes (32%) e depressão (31,1%).

204

205

206

As características clínicas de todos os pacientes avaliados na amostra, bem como
separados conforme a presença do alelo polimórfico dos genes de interesse, encontram-se
descritas na tabela 2.

207

Tabela 2. Características Clínicas conforme presença do alelo polimórfico.

	Geral	LEPr 223 (G)	LEPr 656 (C)	FTO rs9939609 (T)
Gênero				
Feminino	78,8	81,7	79,5	84,3
Masculino	21,2	18,3	20,5	15,7
Presença de DM				
Sim	32,0	31,3	35,7	34,3
Não	68,0	68,7	64,3	65,7
Presença de HAS				
Sim	72,1	73,3	74,1	79,4
Não	27,9	26,7	25,9	20,6
Presença de Depressão				
Sim	31,1	33,3	35,3	33,3
Não	68,9	66,7	64,7	66,7
Presença de TCAP				
Sim	47,3	39,2	44,1	42,0
Não	52,7	60,8	55,9	58,0
Idade (anos)	43,9 (11,5)	45,6 (11,4)	45,8 (11,4)	45,6 (10,8)
IMC (Kg/m²)	48,1 (7,2)	47,4 (6,9)	48,5 (7,2)	47,3 (7,2)
Peso (kg)	127,8 (23,9)	124,9 (21,9)	128,23 (22,6)	124,4 (23,2)
CA (cm)	135,2 (15,1)	134,1 (15,6)	137,1 (14,8)	132,7 (14,9)
Colesterol Total (mg/dL)	190,9 (36,3)	192,3(36,9)	190,1 (40,9)	189,7 (39,5)
Colesterol HDL(mg/dL)	41,0 (9,0)	42,2 (9,9)	42,3 (9,8)	40,8 (9,5)
Colesterol LDL(mg/dL)	116,3 (31,8)	118,0 (32,6)	115,2 (35,8)	114,3 (34,8)
Triglicerídeos (mg/dL)	162,5 (73,2)	155,5 (69,8)	153,1 (71,7)	163,0 (71,8)
Glicemia (mg/dL)	125,8 (46,6)	122,1 (45,0)	128,4 (44,3)	131,5 (50,6)
Hemoglobina Glicada (%)	7,0 (2,0)	6,8 (1,8)	7,0 (1,7)	7,2 (2,1)
Insulina (uU/mL)	32,1 (22,8)	29,7,3 (19,1)	29,8 (17,7)	31,4 (21,0)

208 Legenda: DM: Diabetes; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; TCAP: Transtorno de compulsão alimentar
 209 periódica; IMC: índice de massa corporal; CA: circunferência abdominal; HDL: High *density lipoprotein* LDL:
 210 *Low density lipoprotein*. Dados apresentados como porcentagem de sujeitos com a característica ou médias (desvio
 211 padrão). Não houveram diferenças entre os grupos ($p>0,05$)
 212

213 Quando analisados em conjunto, os genótipos dos três genes avaliados se associaram
 214 com o TCAP, tanto como resposta binária ($p=0,023$ - GLMz - Teste de Omnibus) quanto como
 215 resposta ordinal ($p=0,011$ - GLMz - Teste de Omnibus) (tabela 3). Para avaliar o impacto de
 216 cada gene, realizamos novamente a análise do TCAP como variável ordinal, excluindo, um a
 217 um, os SNPs de interesse. O modelo perdeu significância estatística quando houve a exclusão
 218 do LEPr 223 ou LEPr 656 ($p>0,05$ - GLMz - Teste de Omnibus). No entanto, mesmo com a
 219 retirada do FTO rs9939609 do modelo, esse mantinha significância estatística ($p=0,015$ GLMz
 220 - Teste de Omnibus). O principal efeito genético foi o baseado na interação LEPr 223 e
 221 LEPr 656 ($p=0,021$ – Modelo de efeitos - Threshold), sendo associado ao alelo ancestral do
 222 LEPr 223 (A) e ao alelo polimórfico do LEPr 656 (C) (Tabela 3). Nesta amostra, não foi

223 possível observar essa mesma resposta em outros modelos de herança, já que tanto no modelo
 224 dominante quanto no recessivo, a significância destes SNPs sobre o TCAP (como resposta
 225 ordinal ou binária) deixou de ser observada ($p > 0,05$).
 226

Tabela 3 –Efeitos dos SNPs sobre TCAP e consumo de energia da dieta.

Modelos GLMz	#	B	P'
1) MODELO TCAP			
Interação LEPr 223 (AA) e LEPr 656 (CC)	18,02	22,64	0,021*
LEPr 223 (AA) * LEPr 656 (CC)* Depressão	26,37	20,45	0,002*
2) MODELO KCAL			
LEPr 223 (AA) * LEPr 656 (GC)	10,01	108,5	0,040*
LEPr 223 (AA)* LEPr 656 (CC) * FTO (AA)	16,99	38,10	0,257

χ^2 da razão de Verossimilhança Modelo de efeitos. ¹significância – Modelo de efeitos – Threshold. No modelo TCAP, resposta (variável dependente) é TCAP - variável ordinal. A significância geral no modelo GLMz foi $p=0,011$ (Teste de Omnibus). No modelo KCAL, resposta (variável dependente) é o consumo calórico em quilocalorias por peso - variável linear. A significância geral no modelo GLMz foi $p=0,037$ (Teste de Omnibus). B: estimativa do parâmetro. Apresentados na tabela os maiores efeitos observados nos modelos.

227

228 Ainda, analisamos o consumo alimentar, observando o impacto desses SNPs na
 229 quantidade calórica (kcal/kg de peso atual) e de macronutrientes: carboidratos (g/kg de peso
 230 atual), proteínas (g/kg de peso atual) e lipídios (g/kg de peso atual). Observamos que o consumo
 231 alimentar segue um padrão normoglicêmico, normoprotéico e normolipídico, com uma
 232 distribuição de lipídios de provável impacto aterogênico. Uma descrição do consumo de
 233 alimentar desses pacientes encontra-se na tabela 4.

234 O consumo calórico é afetado somente pelos genótipos dos polimorfismos do LEPr
 235 ($p < 0,037$ - GLMz - Teste de Omnibus), sendo, a interação LEPr 223(AA) e LEPr 656 (GC) a
 236 de maior impacto (tabela 3). A média (\pm desvio padrão) do consumo calórico no genótipo
 237 LEPr 223 (AA) foi de 2780,2 ($\pm 1147,9$) kcal/dia; enquanto no genótipo LEPr 656 (GC) foi de
 238 2811,2 ($\pm 1012,6$) kcal/dia. Em ambos casos, o consumo calórico era superior aos outros
 239 genótipos (150 kcal a 350 kcal), no entanto essa diferença não foi significativa ($p > 0,05$ -
 240 ANOVA).

241 Quando o gene do FTO era incluído ao modelo, ele perdia a significância estatística
 242 ($p=0,071$ - GLMz - Teste de Omnibus). Ao analisarmos os modelos de herança recessivo e
 243 dominante dos SNPs LEPr 223 e LEPr 656 e suas interações no consumo alimentar por kcal/kg,
 244 observamos a significância estatística no modelo recessivo ($p=0,028$ - GLMz - Teste de

245 Omnibus), sendo não significativo no modelo dominante ($p=0,140$ - GLMz - Teste de
246 Omnibus).

247 Em relação aos macronutrientes, somente o consumo de proteína (seja em gramas totais
248 ou ajustadas para o peso do paciente) sofre influência dos SNPs avaliados ($p= 0,023$ - GLMz -
249 Teste de Omnibus). Não houve diferenças de consumo de macronutrientes entre os genótipos
250 de cada SNPs (ANOVA $p>0,05$). Avaliando os modelos genéticos recessivo e dominante
251 também não observamos diferenças entre o consumo de macronutrientes ($p>0,05$).

Tabela 4 – Padrão alimentar conforme presença do alelo polimórfico.

	Total	LEPr 223 (G)	LEPR 656 (C)	FTO rs9939609 (T)
Calorias	2673,40 (1051,99)	2573,07(1026,28)	2677,69 (1070,09)	2515,91 (984,25)
Calorias/kg	21,24 (8,25)	20,95 (8,08)	21,23 (8,57)	20,65 (8,59)
PTN (g)	124,45 (61,64)	114,93 (50,25)	122,53 (55,85)	117,94 (65,46)
PTN (g/kg)	0,98 (0,46)	0,93 (0,39)	0,96 (0,44)	0,95 (0,49)
CHO (g)	334,21 (153,14)	334,22 (150,33)	353,81 (160,60)	324,83(146,79)
CHO (g/kg)	2,73 (1,21)	2,71 (1,18)	2,79 (1,27)	2,67 (1,27)
LIP (g)	90,03 (40,53)	87,19 (40,40)	87,44 (38,93)	81,93 (35,52)
LIP (g/kg)	0,71 (0,32)	0,71 (0,32)	0,69 (0,31)	0,67 (0,32)
LIP.SAT (%)	9,10 (4,83)	9,23 (5,49)	9,09 (5,71)	9,00 (5,85)
LIP.INSAT (%)	8,23 (2,34)	8,30 (2,40)	7,90 (2,25)	7,90 (2,31)
LIP.MONO (%)	10,56 (3,99)	10,36 (3,22)	10,66 (3,10)	10,03 (2,83)
COL (g)	283,00 (162,35)	264,48 (144,10)	272,71 (167,70)	264,95 (143,83)
$\omega 6/\omega 3$	8,52 (2,94)	8,57 (3,16)	8,47 (2,46)	8,74 (3,45)
Fibra (g)	26,37 (13,26)	25,25 (13,07)	26,75 (13,24)	25,56 (12,89)

252 Legenda: PTN: Proteínas; CHO: Carboidratos; LIP: Lipídeos; LIP.SAT: Lipídeos Saturados. LIP.INSAT:
253 Lipídeos insaturados; LIP.MONO: Lipídeos monoinsaturados; COL: Colesterol. $\omega 6/\omega 3$: Razão ômega 6 por
254 ômega 3. Dados apresentados em Frequências e médias (\pm desvio padrão). Não houveram diferenças entre os
255 grupos $p>0,05$.

256

257

Discussão

258 Nessa amostra de pacientes obesos, as doenças associadas estão presentes em elevada
259 prevalência, como esperando e já extensamente descrito (46). Reforçando as teorias que
260 levantam a hipótese de que o obeso metabolicamente saudável é um estado transitório (47),
261 nossos pacientes apresentaram altas prevalências de diabetes, hipertensão, depressão e
262 transtorno de compulsão alimentar; independente do subgrupo avaliado, as prevalências
263 permaneciam similares e elevadas. O genótipo da nossa amostra poderia influenciar nessas
264 prevalências, há evidências robustas para a associação genética do LEPr 223 e FTO à
265 susceptibilidade ao DM2; já o SNP LEPr 656 não parece ter essa mesma associação (48-51).

266 Em relação ao TCAP, comumente negligenciado no tratamento da obesidade, quase
267 metade dos pacientes apresentaram o diagnóstico positivo do transtorno. Alguns estudos
268 demonstram que a compulsão é fortemente associada a desfechos relacionados com o peso e,

269 portanto, altamente vinculada com a epidemia da obesidade (52). Em nosso estudo, observamos
270 que o TCAP é influenciado, também, pela genética do indivíduo, sendo a interação entre os
271 SNPS do LEPr de maior impacto na doença. Quando analisamos a interação LEPr 223 e
272 LEPr 656, observamos que quando o LEPr 223 é homozigoto selvagem (AA) e quando o
273 LEPr 656 é homozigoto polimórfico (CC), a interação foi capaz de produzir um maior efeito de
274 risco (tabela 3).

275 Em relação ao FTO, embora fortemente associado a obesidade em diversos estudos (53-
276 55), contraditoriamente ao esperado, não observamos a sua associação ao TCAP.
277 Recentemente, foi observada uma associação significativa do alelo A rs9939609 com o
278 comportamento compulsivo presente em pacientes com Anorexia Nervosa (AN) e Bulimia
279 Nervosa (BN). Ainda, o alelo A foi associado a uma maior gravidade das características
280 psicopatológicas específicas, incluindo alimentação emocional e desordem da corporeidade
281 (56). Previamente, Müller e colaboradores também haviam encontrado uma associação do alelo
282 A com os diagnósticos de AN e BN (57). Em contrapartida, Jonassaint e colaboradores não
283 encontraram nenhuma associação significativa com AN (58). A associação desse SNP com
284 esses transtornos alimentares pode ser relativa ao fato de que a privação de alimentos aumenta
285 a expressão do FTO no hipotálamo corroborando a hipótese de que FTO desempenha um papel
286 no comportamento alimentar (59, 60). No entanto, essas associações são incipientes e precisam
287 ser amplamente estudadas,

288 A obesidade, ainda, é um fator de risco para o desenvolvimento de depressão que por
289 sua vez, é associada a compulsão alimentar (61); devido a isso, essa variável fez parte do
290 modelo de risco para TCAP proposto nesse estudo. No entanto, quando a depressão era avaliada
291 isoladamente, o modelo não mantinha a significância estatística, mostrando que, a depressão
292 seria mais uma peça desse complexo quebra-cabeça, e seu papel nessa doença, não excluiria a
293 importância da genética (tabela 3). Quanto mais elevado o IMC, maior o risco de desenvolver
294 depressão associada (62), e pessoas obesas tem um risco aumentado em 55% de desenvolver
295 depressão, já depressivos, tem um risco de 58% de tornarem-se obesos (63); esses dados
296 reforçam a relação da depressão e obesidade; de uma forma geral, fatores emocionais impactam
297 no consumo alimentar. Recentemente um estudo demonstrou que fatores psicológicos eram
298 positivamente associados com gordura corporal (mesmo em indivíduos não obesos) ($p < 0.028$)
299 (64).

300 Ainda, é fundamental discutir o uso de medicamentos dos pacientes avaliados. Sabemos
301 que alguns medicamentos podem impactar na avaliação realizada. Tem sido proposto que

302 alguns tratamentos comuns de depressão podem aumentar o risco da obesidade. Ugoz e
303 colaboradores demonstraram que o uso de antidepressivos promove um aumento de peso em
304 55,5% dos pacientes avaliados, podendo chegar a um aumento de 7% a 20% (dependendo do
305 medicamento) nos três primeiros meses de tratamento (65). Em nossa amostra, 28,7% dos
306 indivíduos utilizavam algum antidepressivo. O fato dessas variáveis não serem incluídas no
307 modelo pode impactar nesses resultados e são uma limitação desse estudo.

308 A ligação de todos esses fatores, pode ser devido ao tipo de sinalização cerebral dos
309 mesmos. Obesos demonstram uma maior ativação de certos sistemas no cérebro, especialmente
310 em regiões envolvidas na regulação da ingestão de alimentos e relacionadas com o sistema de
311 recompensa (66). Sabe-se que a leptina atua via seu receptor no sistema nervoso central, esses
312 SNPs poderiam ser a origem de um sinal defeituoso que se propaga, gerando defeitos nesses
313 sistemas, o que poderia culminar com o traço compulsivo e impactar no ganho de peso ao longo
314 da vida.

315 A sensibilização é uma propriedade básica do sistema nervoso, em que a exposição
316 repetida a um estímulo resulta em um aumento na resposta a esse estímulo. Assim, a exposição
317 repetida ao consumo alimentar inadequado acabaria por levar a obesidade. Adultos magros
318 normalmente não demonstram sensibilização comportamental após exposição repetida a um
319 lanche tipo “*fast food*”, mas um subconjunto de adultos obesos o faz, levantando a hipótese de
320 que esse sistema é diferente em indivíduos obesos (67). Um recente estudo demonstrou que
321 FTO rs9939609 está associado ao processamento neural de imagens de alimentos, na verdade,
322 o genótipo AA aumentou a atividade cerebral especificamente em áreas importantes para a
323 emoção, memória e auto-imagem e recompensa em comparação com o genótipo TT (68).

324 Em relação ao padrão dietético, observamos que a genética, também, impacta no
325 consumo calórico, sendo esse relacionado, nessa amostra, somente aos SNPs do LEPr. Ao
326 analisarmos a interação LEPr 223 e LEPr 656, observamos que quando o LEPr 223 é
327 homocigoto selvagem (AA) e quando o LEPr 656 é heterocigoto (GC), a interação foi capaz de
328 produzir um maior efeito de risco de maior consumo calórico (tabela 3).

329 Novamente, o FTO rs9939609 não foi associado a características dietéticas. Uma
330 hipótese que poderia justificar essa situação, talvez se dê ao fato de que as alterações na
331 expressão do gene do FTO relacionadas ao consumo alimentar poderiam ser vinculadas a outros
332 SNPs, que não o rs9939609 (69). Zheng e colaboradores, demonstram, por exemplo, que os
333 portadores do alelo de risco do FTO rs1558902 apresentam maiores alterações na sensibilidade
334 à insulina, conforme o consumo de alimentos; esse achado não foi observado para o FTO

335 rs9939609 (70). Ainda, a expressão hipotalâmica do FTO é afetada pelo consumo energético,
336 sendo o mRNA de FTO altamente expresso em áreas cerebrais importantes para a regulação do
337 consumo de energia (71).

338 Interessante notar que o LEPr parece ser essencial para o efeito na expressão do gene
339 FTO, sendo a via de sinalização STAT3 envolvida nesse processo. Wang e colaboradores
340 referem que há uma regulação dependente do LEPr na expressão do FTO durante a restrição
341 energética (72). Já foi descrito que a interação entre rs9939609 e rs1137101 provavelmente
342 afeta o controle da fome através de um mecanismo diferente da metilação do DNA (73). Além
343 disso, a sinalização de leptina parece ter um papel indispensável na regulação dos níveis de
344 insulina e glucagon e, essa má sinalização proveniente dos SNPs poderia promover o
345 desenvolvimento da hiperinsulinemia induzida por dieta e ganho de peso subsequente (74).

346 Em conjunto, esses estudos reforçam a possibilidade de que a ingestão de energia
347 desempenhe um papel significativo na relação entre FTO e o peso corporal. No entanto,
348 fenótipos de consumo e comportamento alimentar específicos associados a esse polimorfismo
349 não foram identificados nessa amostra. Ressalta-se que é fundamental observar esses dados de
350 forma cautelosa, já que pacientes compulsivos não realizaram (provavelmente) a avaliação
351 alimentar durante os episódios de compulsão.

352 Nossos resultados também trazem dados relevantes em relação ao tipo de consumo
353 alimentar de indivíduos gravemente obesos. As escolhas alimentares desses indivíduos não só
354 impactam no ganho de peso, mas também, em alterações bioquímicas que refletem nas
355 alterações metabólicas observadas. Uma dieta rica em gorduras, por exemplo, pode impactar
356 negativamente na expressão ou ativação de PPAR, isso favoreceria o aparecimento da
357 obesidade, dislipidemia e resistência à insulina (75). Pacientes com doenças associadas à
358 síndrome metabólica deveriam ter um consumo de, no máximo, 7% de ácidos graxos saturados
359 e 200 mg de colesterol/dia. Nossos pacientes apresentaram um consumo médio de
360 9,10% ($\pm 4,8$) de ácidos graxos saturados e 283,00 mg ($\pm 162,3$) de colesterol/dia. Ainda,
361 apresentaram um baixo consumo de gordura monoinsaturada, que deveria estar acima de 15%,
362 e esses pacientes consumiam, em média, 10,56% ($\pm 3,9$) (76).

363 Uma relação elevada de ômega 6: ômega 3, especialmente associada a altos valores de
364 ácido linoleico comum as dietas ocidentais, também é relacionada a altas prevalências de
365 obesidade; além disso, o ácido linoleico se converte em ácido araquidônico, que desempenha
366 um papel crucial na indução da inflamação e adipogênese (77). Nossos pacientes apresentam
367 uma razão média de 8,52:1 ($\pm 2,94$), idealmente, essa razão deveria estar em 5:1 (76). Conforme

368 previamente citado, devemos levantar a hipótese de que o registro alimentar provavelmente não
369 ocorreu em dias de episódios compulsivos, assim, o consumo alimentar poderia ser superior ao
370 reportado. Essas características são encontradas em todas as formas de inquérito alimentar, e
371 são vieses inerentes aos próprios instrumentos.

372 Outros estudos, também, já avaliaram o impacto da genética, especialmente de SNPs
373 relativos ao receptor de leptina. de Luis DA e colaboradores, em uma amostra com 132 pacientes
374 obesos recebendo uma dieta hipocalórica enriquecida com ácidos graxos poli-insaturados
375 concluíram que portadores do SNP LEPr 656 têm uma resposta diferente da observada nos
376 indivíduos com o genótipo do tipo selvagem (78). Outro estudo, que também avaliou a
377 influência da genética associada a uma intervenção nutricional (dieta pobre em gordura Vs dieta
378 pobre em carboidratos), demonstrou que conforme o genótipo do sujeito e o tipo de dieta, a
379 resposta metabólica era distinta (79). Ainda foi descrito que o FTO parece influenciar na
380 escolha de alimentos ricos em gordura e altamente palatáveis, sendo que esse poderia ser o
381 mecanismo pelo qual o FTO é associado à obesidade.

382 Desta forma, a genética parece impactar no consumo alimentar, inclusive nas escolhas
383 alimentares, e no transtorno de compulsão alimentar periódica, nossos resultados reforçam essa
384 hipótese. Devido a elevada prevalência de TCAP, bem como a alta prevalência dos SNPs
385 avaliados, em obesos, devemos olhar de forma diferenciada para essa população (80).

386

387

Conclusão

388 Esse estudo aponta para possíveis mecanismos genéticos envolvidos na compulsão
389 alimentar, sendo necessário explorar mais essas relações futuramente. Nosso estudo demonstra
390 que os SNPs do LEPr 223 e LEPr 656 se associam ao TCAP e consumo calórico de pacientes
391 obesos, especialmente o LEPr 223 (AA), podendo vir a ser um importante marcador de risco
392 desses indivíduos. Nessa amostra, o FTO não apresentou associações com TCAP e consumo
393 alimentar.

- 395 1. Marti A, Berraondo B, Martinez JA. Leptin: physiological actions. *J Physiol Biochem* 1999;
396 55: 43–49.
- 397 2. Damcott CM, Sack P, Shuldiner AR. The genetics of obesity. *Endocrinol Metab Clin North*
398 *Am* 2003; 32:761–786.
- 399 3. Speakman JR. Obesity: The integrated roles of environment and genetics. *J Nutr* 2004; 134:
400 2090S–2105S.
- 401 4. Loos RJ, Bouchard C. Obesity—is it a genetic disorder? *J Intern Med* 2003; 254: 401–425.
- 402 5. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet* 2005; 366: 1197–1209.
- 403 6. Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui
404 K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, Nakao K. Human leptin
405 receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or
406 association of sequence variants with obesity. *Diabetologia*. 1997 Oct;40(10):1204-10.
- 407 7. Yiannakouris N The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly
408 associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition
409 variability, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. *J Clin*
410 *Endocrinol Metab*. 2001 Sep;86(9):4434-9.
- 411 8. Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, Van Gaal LF,
412 Bouchard C. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution
413 in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001 May;25(5):714-20.
- 414 9. Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the
415 leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002
416 Sep;26(9):1179-85.
- 417 10. Portolés O, Sorlí JV, Francés F, Coltell O, González JI, Sáiz C, Corella D. Effect of genetic
418 variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-
419 based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol*. 2006;21(8):605-12
- 420 11. Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu VA, Cabello PH, Pimentel MM. LEPR p.Q223R,
421 beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. *Genet Mol*
422 *Res*. 2007 Oct 5;6(4):1035-43.
- 423 12. Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Deniz Ozsoy E, Ozata M. LEPR, ADBR3, IRS-1 and
424 5-HTT genes polymorphisms do not associate with obesity. *Endocr J*. 2007 Feb;54(1):89-94
- 425 13. Oliveira Rd, Cerda A, Genvigir FD, Sampaio MF, Armaganijan D, Bernik MM, Dorea EL,
426 Hirata MH, Hinuy HM, Hirata RD. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with
427 adiposity and metabolic alterations in Brazilian individuals. *Arq Bras Endocrinol Metabol*.
428 2013 Dec;57(9):677-84.

- 429 14. Chavarria-Avila E, Vázquez-Del Mercado M, Gomez-Bañuelos E, Ruiz-Quezada SL,
430 Castro-Albarran J, Sánchez-López L, Martín-Marquez BT, Navarro-Hernández RE. The Impact
431 of LEP G-2548A and LEPR Gln223Arg Polymorphisms on Adiposity, Leptin, and Leptin-
432 Receptor Serum Levels in a Mexican Mestizo Population. *Biomed Res Int*. 2015;2015:539408
- 433 15. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional
434 sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest*. 1997 Jul 15;100(2):270-8.
- 435 16. Nelson DL, Cox MM. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6ª Edição, Artmed (Porto
436 Alegre). 2014.1328p
- 437 17. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J,
438 Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP. Evidence that the diabetes
439 gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db
440 mice. *Cell*. 1996 Feb 9;84(3):491-5.
- 441 18. Chua SC, Jr, White DW, Wu-Peng XS, et al. Phenotype of fatty due to Gln269Pro mutation
442 in the leptin receptor (*Lepr*). *Diabetes* 1996; 45: 1141–1143.
- 443 19. White DW, Wang DW, Chua SC Jr, Morgenstern JP, Leibel RL, Baumann H, Tartaglia LA.
444 Constitutive and impaired signaling of leptin receptors containing the Gln --> Pro extracellular
445 domain fatty mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Sep 30;94(20):10657-62.
- 446 20. Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism
447 (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in
448 postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet*. 2001 Mar;108(3):233-6
- 449 21. Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen
450 U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL,
451 Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt
452 MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ, Gropp E, Allison DB. A meta-analytic investigation
453 of linkage and association of common leptin receptor (*LEPR*) polymorphisms with body mass
454 index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002 May;26(5):640-6
- 455 22. Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X. Genetic polymorphisms in adipokine genes
456 and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)*. 2012
457 Feb;20(2):396-406.
- 458 23. Ghalandari H, Hosseini-Esfahani F, Mirmiran P. The Association of Polymorphisms in
459 Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity
460 and the Related Metabolic Disturbances: A Review *Int J Endocrinol Metab*. 2015 Jul; 13(3):
461 e19073.
- 462 24. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of Leptin and Obesity: A HUGE Review. *Am J*
463 *Epidemiol* 2005; 162(2): 101-114.
- 464 25. Heo M, Leibel RL, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen
465 A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR,
466 Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sørensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs
467 KB, Elston RC, Hoffman DJ, Allison DB. Pooling analysis of genetic data: the association of

- 468 leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics*.
469 2001 Nov;159(3):1163-78.
- 470 26. Bender N, Allemann N, Marek D, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Egger M, Bochud
471 M. Association between variants of the leptin receptor gene (LEPR) and overweight: a
472 systematic review and an analysis of the CoLaus study. *PLoS One*. 2011;6(10):e26157
- 473 27. Yang Q, Xiao T, Guo J, Su Z. Complex Relationship between Obesity and the Fat Mass
474 and Obesity Locus. *Int J Biol Sci*. 2017 May 15;13(5):615-629
- 475 28. Marian Tanofsky-Kraff, Joan C Han, Kavitha Anandalingam, Lauren B Shomaker, Kelli M
476 Columbo, Laura E Wolkoff, Merel Kozlosky, Camden Elliott, Lisa M Ranzenhofer, Caroline
477 A Roza, Susan Z Yanovski, and Jack A Yanovski. The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele
478 and loss of control over eating. *Am J Clin Nutr*. 2009 Dec; 90(6): 1483–1488.
- 479 29. Tao H, Qibin Q, Yanping L, Hu FB, Bray GA, Sacks FM, et al. FTO genotype, dietary
480 protein, and change in appetite: the Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies trial.
481 *American Journal of Clinical Nutrition*. 2014; 99: 1126-30.
- 482 30. Hess ME, Hess S, Meyer KD, Verhagen LA, Koch L, Brönneke HS, Dietrich MO, Jordan
483 SD, Saletore Y, Elemento O, Belgardt BF, Franz T, Horvath TL, Rüther U, Jaffrey SR,
484 Kloppenburg P, Brüning JC. The fat mass and obesity associated gene (Fto) regulates activity
485 of the dopaminergic midbrain circuitry. *Nature Neuroscience*, 16 (2013), pp. 1042–1048.
- 486 31. Qi L, Kang K, Zhang C, van Dam RM, Kraft P, Hunter D, Lee CH, Hu FB. Fat mass-and
487 obesity-associated (FTO) gene variant is associated with obesity: longitudinal analyses in two
488 cohort studies and functional test. *Diabetes* 2008;57:3145–51.
- 489 32. Stratigopoulos G, LeDuc CA, Cremona ML, Chung WK, Leibel RL. Cut-like homeobox 1
490 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa
491 GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIPL) genes and coordinates leptin receptor
492 signaling. *J Biol Chem*. 2011;2011;286:2155–7.
- 493 33. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders
494 5th. In: 2 ed. 2013. p. 970.
- 495 34. Prisco APK, de Araujo TM, de Almeida MMG, Santos KOB. [Prevalence of eating
496 disorders in urban workers in a city of the northeast of Brazil]. *Prevalencia transtornos Aliment*
497 *em Trab urbanos Munic do Nord do Bras*. 2013;18(4):1109–18.
- 498 35. Horvath JDC, Kops NL, Dias de Castro ML, Friedman R. Food consumption in patients
499 referred for bariatric surgery with and without binge eating disorder. *Eating Behaviors*
500 2015;19:10–3.
- 501 36. Mitchell JE, King WC, Courcoulas A, Dakin G, Elder K, Engel S, Flum D, Kalarchian M,
502 Khandelwal S, Pender J, Pories W, Wolfe B. Eating behavior and eating disorders in adults
503 before bariatric surgery. *Int J Eat Disord [Internet]*. 2015;48(2):215–22.
- 504 37. Marek RJ, Ben-Porath YS, Ashton K, Heinberg LJ. Impact of using DSM-5 criteria for
505 diagnosing binge eating disorder in bariatric surgery candidates: Change in prevalence rate,

- 506 demographic characteristics, and scores on the minnesota multiphasic personality inventory - 2
507 restructured form (MMPI-2-RF). *Int J Eat Disord.* 2014;47(5):553–7.
- 508 38. Borges MBF, Morgan CM, Claudino AM and Silveira DX. Validation of the portuguese
509 version of the Questionnaire on Eating and Weight Patterns: revised (QEWPR) for the
510 screening of binge eating disorder. *Rev. Bras. Psiquiatr.* [online]. 2005, vol.27, n.4, pp.319-
511 322.
- 512 39. Ministério da Saúde. Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - Sisvan: orientações
513 básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde.
514 Brasília; Disponível em : [http://nutricao.saude.gov.br/ documentos](http://nutricao.saude.gov.br/documentos/orientacoes_basicas_sisvan.pdf)
515 /orientacoes_basicas_sisvan.pdf. Acesso em: 29/05/2014.
- 516 40. Correia Horvath JD, Dias de Castro ML, Kops N, Kruger Malinoski N, Friedman R. Obesity
517 coexists with malnutrition? Adequacy of food consumption by severely obese patients to
518 dietary reference intake recommendations. *Nutr Hosp.* 2014 Feb 1;29(2):292-9.
- 519 41. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density
520 lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972 Jun;
521 18(6):499-502.
- 522 42. Adolfo Milech et. al. Organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio. Diretrizes
523 da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016). São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016.
- 524 43. Sociedade Brasileira de Cardiologia / Sociedade Brasileira de Hipertensão / Sociedade
525 Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 2010; 95(1
526 supl.1): 1-51
- 527 44. World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood: best practices in
528 phlebotomy. 2010;125p.
- 529 45. Rodriguez, S. Gaunt TR and Day, IMN. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological
530 Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol.* 2009 Feb 15; 169(4):
531 505–514.
- 532 46. Verma S, Hussain ME. Obesity and diabetes: An update. *Diabetes Metab Syndr.* 2016 Jun
533 17. pii: S1871-4021(16)30066-2
- 534 47. Zhao L, Ni Y, Ma X, Zhao A, Bao Y, Liu J, Chen T, Xie G, Panee J, Su M, Yu H, Wang C,
535 Hu C, Jia W, Jia W. A panel of free fatty acid ratios to predict the development of metabolic
536 abnormalities in healthy obese individuals. *Sci Rep.* 2016 Jun 27;6:28418.
- 537 48. Yang MM, Wang J, Fan JJ, Ng TK, Sun DJ, Guo X, Teng Y, Li YB. Variations in the
538 Obesity Gene "LEPR" Contribute to Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: Evidence from a Meta-
539 Analysis. *J Diabetes Res.* 2016;2016:5412084
- 540 49. Kasim NB, Huri HZ, Vethakkan SR, Ibrahim L, Abdullah BM. Genetic polymorphisms
541 associated with overweight and obesity in uncontrolled Type 2 diabetes mellitus. *Biomark Med.*
542 2016 Apr;10(4):403-15.

- 543 50. Queiroz EM, Cândido AP, Castro IM, Bastos AQ, Machado-Coelho GL, Freitas RN. IGF2,
544 LEPR, POMC, PPARG, and PPARGC1 gene variants are associated with obesity-related risk
545 phenotypes in Brazilian children and adolescents. *Braz J Med Biol Res.* 2015 Jul;48(7):595-
546 602
- 547 51. Kamura Y, Iwata M, Maeda S, Shinmura S, Koshimizu Y, Honoki H, Fukuda K, Ishiki M,
548 Usui I, Fukushima Y, Takano A, Kato H, Murakami S, Higuchi K, Kobashi C, Tobe K. FTO
549 Gene Polymorphism Is Associated with Type 2 Diabetes through Its Effect on Increasing the
550 Maximum BMI in Japanese Men. *PLoS One.* 2016 Nov 7;11(11)
- 551 52. Hallam J, Boswell RG, DeVito EE, Kober H. Gender-related Differences in Food Craving
552 and Obesity. *Yale J Biol Med.* 2016 Jun 27;89(2):161-73.
- 553 53. Yeo GS. The role of the FTO (Fat Mass and Obesity Related) locus in regulating body size
554 and composition. *Mol Cell Endocrinol.* 2014 Nov;397(1-2):34-41.
- 555 54. Merkestein M, Sellayah D. Role of FTO in Adipocyte Development and Function: Recent
556 Insights. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:521381.
- 557 55. Kim YJ, Lee HS, Kim YK, Park S, Kim JM, Yun JH, Yu HY, Kim BJ. Association of
558 Metabolites with Obesity and Type 2 Diabetes Based on FTO Genotype. *PLoS One.* 2016 Jun
559 1;11(6):e0156612.
- 560 56. Giovanni Castellini, Marica Franzago, Silvia Bagnoli, Lorenzo Lelli, Michela Balsamo,
561 Milena Mancini, Benedetta Nacmias, Valdo Ricca, Sandro Sorbi, Ivana Antonucci, Liborio
562 Stuppia, and Giovanni Stanghellini. Fat mass and obesity-associated gene (FTO) is associated
563 to eating disorders susceptibility and moderates the expression of psychopathological traits.
564 *PLoS One.* 2017; 12(3): e0173560
- 565 57. Müller TD, Greene BH, Bellodi L, Cavallini MC, Cellini E, Di Bella D, Ehrlich S,
566 Erzegovesi S, Estivill X, Fernández-Aranda F, Fichter M, Fleischhaker C, Scherag S, Gratacòs
567 M, Grallert H, Herpertz-Dahlmann B, Herzog W, Illig T, Lehmkuhl U, Nacmias B, Ribasés M,
568 Ricca V, Schäfer H, Scherag A, Sorbi S, Wichmann HE, Hebebrand J, Hinney A. Fat mass and
569 obesity-associated gene (FTO) in eating disorders: evidence for association of the rs9939609
570 obesity risk allele with bulimia nervosa and anorexia nervosa. *Obes Facts.* 2012; 5:408–19.
- 571 58. Jonassaint CR, Szatkiewicz JP, Bulik CM, Thornton LM, Bloss C, Berrettini WH, Kaye
572 WH, Bergen AW, Magistretti P, Strober M, Keel PK, Brandt H, Crawford S, Crow S, Fichter
573 MM, Goldman D, Halmi KA, Johnson C, Kaplan AS, Klump KL, La Via M, Mitchell JE,
574 Rotondo A, Treasure J, Woodside DB. Absence of association between specific common
575 variants of the obesity-related FTO gene and psychological and behavioral eating disorder
576 phenotypes. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2011; 156B: 454–61.
- 577 59. Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, Yeo GS, McDonough
578 MA, Cunliffe S, McNeill LA, Galvanovskis J, Rorsman P, Robins P, Prieur X, Coll AP, Ma M,
579 Jovanovic Z, Farooqi IS, Sedgwick B, Barroso I, Lindahl T, Ponting CP, Ashcroft FM,
580 O'Rahilly S, Schofield CJ. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-
581 dependent nucleic acid demethylase. *Science* 2007;318:1469–72.

- 582 60. Stratigopoulos G, Padilla SL, LeDuc CA, Watson E, Hattersley AT, McCarthy MI, Zeltser
583 LM, Chung WK, Leibel RL. Regulation of Fto/Ftm gene expression in mice and humans. *Am*
584 *J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294:R1185–96
- 585 61. Apovian CM. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am J Manag Care.*
586 2016 Jun;22(7 Suppl):s176-85.
- 587 62. Gibson-Smith D, Bot M, Paans NP, Visser M, Brouwer I, Penninx BW. The role of obesity
588 measures in the development and persistence of major depressive disorder. *J Affect Disord.*
589 2016;198:222-229.
- 590 63. Luppino FS1, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, Zitman FG.
591 Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal
592 studies. *Arch Gen Psychiatry.* 2010;67(3):220-229.
- 593 64. Kruger R, De Bray JG, Beck KL, Conlon CA, Stonehouse W. Exploring the Relationship
594 between Body Composition and Eating Behavior Using the Three Factor Eating Questionnaire
595 (TFEQ) in Young New Zealand Women. *Nutrients.* 2016 Jun 23;8(7).
- 596 65. Uguz F, Sahingoz M, Gungor B, Aksoy F, Askin R. Weight gain and associated factors in
597 patients using newer antidepressant drugs. *General Hospital Psychiatry.* 2015;37(1):46-48
- 598 66. Hogenkamp PS, Zhou W, Dahlberg LS, Stark J, Larsen AL, Olivo G, Wiemerslage L,
599 Larsson EM, Sundbom M, Benedict C, Schiöth HB. Higher resting-state activity in reward-
600 related brain circuits in obese versus normal-weight females independent of food intake. *Int J*
601 *Obes (Lond).* 2016 Nov;40(11):1687-1692.
- 602 67. Temple JL. Behavioral Sensitization of the Reinforcing Value of Food: What food and drugs
603 have in common. *Prev Med.* 2016 Jun 23. pii: S0091-7435(16)30147-5.
- 604 68. Wiemerslage L, Nilsson EK, Solstrand Dahlberg L, Ence-Eriksson F, Castillo S, Larsen
605 AL, Bylund SB, Hogenkamp PS, Olivo G, Bandstein M, Titova OE, Larsson EM, Benedict C,
606 Brooks SJ, Schiöth HB. An obesity-associated risk allele within the FTO gene affects human
607 brain activity for areas important for emotion, impulse control and reward in response to food
608 images. *Eur J Neurosci.* 2016; 43:1173–80.
- 609 69. Doaei S, Kalantari N, Mohammadi NK, Tabesh GA, Gholamalizadeh M. Macronutrients
610 and the FTO gene expression in hypothalamus; a systematic review of experimental studies.
611 *Indian Heart J.* 2017 Mar - Apr;69(2):277-281.
- 612 70. Zheng Y, Huang T, Zhang X, Rood J, Bray GA, Sacks F1, Qi L. Dietary Fat Modifies the
613 Effects of FTO Genotype on Changes in Insulin Sensitivity. *J Nutr.* 2015 May;145(5):977-82.
- 614 71. Marian Tanofsky-Kraff, Joan C Han, Kavitha Anandalingam, Lauren B Shomaker, Kelli
615 M Columbo, Laura E Wolkoff, Merel Kozlosky, Camden Elliott, Lisa M Ranzenhofer, Caroline
616 A Roza, Susan Z Yanovski, and Jack A Yanovski. The *FTO* gene rs9939609 obesity-risk allele
617 and loss of control over eating. *Am J Clin Nutr.* 2009 Dec; 90(6): 1483–1488.
- 618 72. Pei Wang, Feng-Jiao Yang, Hui Du, Yun-Feng Guan, Tian-Ying Xu, Xue-Wen Xu, Ding-
619 Feng Su, and Chao-Yu Miao. Involvement of Leptin Receptor Long Isoform (LepRb)-STAT3

- 620 Signaling Pathway in Brain Fat Mass– and Obesity-Associated (FTO) Downregulation during
621 Energy Restriction. *Mol Med.* 2011 May-Jun; 17(5-6): 523–532.
- 622 73. den Hoed M, Westerterp-Plantenga MS, Bouwman FG, Mariman EC, Westerterp KR.
623 Postprandial responses in hunger and satiety are associated with the rs9939609 single
624 nucleotide polymorphism in FTO. *Am J Clin Nutr.* 2009 Nov;90(5):1426-32.
- 625 74. Denroche HC, Glavas MM, Tudurí E, Karunakaran S, Quong WL, Philippe M, Britton HM,
626 Clee SM, Kieffer TJ. Disrupted Leptin Signaling in the Lateral Hypothalamus and Ventral
627 Premammillary Nucleus Alters Insulin and Glucagon Secretion and Protects Against Diet-
628 Induced Obesity. *Endocrinology.* 2016 Jul;157(7):2671-85.
- 629 75. Domínguez-Avila JA, González-Aguilar GA, Alvarez-Parrilla E, de la Rosa LA.
630 Modulation of PPAR Expression and Activity in Response to Polyphenolic Compounds in High
631 Fat Diets. *Int J Mol Sci.* 2016 Jun 29;17(7). pii: E1002.
- 632 76. Santos R.D., Gagliardi A.C.M., Xavier H.T., Magnoni C.D., Cassani R., Lottenberg A.M.P.
633 et al . I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.*
634 [Internet]. 2013 Jan [cited 2016 July 20] ; 100(1 Suppl 3): 1-40
- 635 77. Naughton SS, Mathai ML, Hryciw DH, McAinch AJ. Linoleic acid and the pathogenesis of
636 obesity. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2016 Jun 24. pii: S1098-8823(16)30036-3.
- 637 78. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R, de la Fuente B, Primo D.
638 Effect of Lys656Asn Polymorphism of Leptin Receptor Gene on Cardiovascular Risk Factors
639 and Serum Adipokine Levels after a High Polyunsaturated Fat Diet in Obese Patients. *J Clin*
640 *Lab Anal.* 2015 Nov;29(6):432-6
- 641 79. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Sagrado MG, Conde R. Influence of Lys656Asn
642 polymorphism of leptin receptor gene on leptin response secondary to two hypocaloric diets: a
643 randomized clinical trial. *Ann Nutr Metab.* 2008;52(3):209-14
- 644 80. Chavarria-Avila E, Vázquez-Del Mercado M, Gomez-Bañuelos E, Ruiz-Quezada SL,
645 Castro-Albarran J, Sánchez-López L, Martín-Marquez BT, Navarro-Hernández RE. The Impact
646 of LEP G-2548A and LEPR Gln223Arg Polymorphisms on Adiposity, Leptin, and Leptin-
647 Receptor Serum Levels in a Mexican Mestizo Population. *Biomed Res Int.* 2015;2015:539408