

Claudia Blanes Angeli

Susceptibilidade Genética e Outros Fatores de Risco
Associados ao Sobrepeso e à Obesidade em
Populações Afro-descendentes
do Vale do Ribeira-SP

São Paulo

2008

Claudia Blanes Angeli

Susceptibilidade Genética e Outros Fatores de Risco
Associados ao Sobrepeso e à Obesidade em
Populações Afro-descendentes
do Vale do Ribeira-SP

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de
Biologia/Genética.

Orientador(a): Regina Célia Mingroni
Netto

São Paulo

2008

Angeli, Claudia B.

Susceptibilidade genética e outros fatores de risco associados ao sobrepeso e à obesidade em populações afro-descendentes do Vale do Ribeira-SP

212 páginas

Tese Doutorado- Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

1.Obesidade 2.Sobrepeso 3.Susceptibilidade genética
4.Afro-descendentes

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).
Orientador(a)

*Ao meu pai, Sebastião Alberto Angeli,
com muito amor e saudades.*

*“Eu amo tudo o que foi,
Tudo o que já não é,
A dor que já me não dói,
A antiga e errônea fé,
O ontem que dor deixou,
O que deixou alegria
Só porque foi, e voou
E hoje é já outro dia.”*

Fernando Pessoa

Agradecimentos

Agradeço especialmente à minha orientadora Regina Célia Mingroni Netto, não somente pela orientação nesse trabalho, mas por toda sua amizade, dedicação e respeito que vêm permeando esses onze agradáveis anos de convivência.

Aos Drs. José Eduardo Krieger e Alexandre Pereira, do laboratório de Cardiologia Molecular do Incor pela elaboração do projeto e especialmente ao Alexandre pela ajuda com as análises estatísticas e genealógicas.

Aos médicos de nossa equipe de pesquisa, Dr. João Pedro Vicente, Roberto Maluf e Franklin Albert Kono pelo exame clínico dos indivíduos quilombolas.

Agradeço à Dra. Bárbara Piperata pelo treinamento para a coleta das medidas antropométricas e pelo fornecimento de medidas adicionais de alguns indivíduos e à Dra. Cristina Adams pela ajuda com o processamento e interpretação dos resultados antropométricos das populações quilombolas.

Meus sinceros agradecimentos ao sempre presente Prof. Dr. Paulo Alberto Otto pelos valiosos ensinamentos e pelo auxílio nas análises estatísticas.

Agradeço ao amigo Ricardo Godoi pela ajuda de última hora na interpretação de algumas análises estatísticas.

Ao Dr. Rui Murrieta e a seus alunos: Mirella Abrahão Crevelaro pelo auxílio com as referências bibliográficas sobre transição nutricional; Nelson Novaes Pedroso Jr., Aglair Pedrosa Primo e Carolina Santos Taqueda pelos dados do senso das populações quilombolas.

Às prefeituras dos municípios de Eldorado e Iporanga pelo apoio. Às irmãs Angela Biagioni e Maria Sueli Berlanga, da Casa Paroquial de Eldorado e a Antônio Carlos Nicomedes, do MOAB, pela ajuda no contato com as comunidades.

Ao Fábio Casemiro Simões de Abreu, pelo auxílio com a tradução do resumo.

Agradeço à amiga Maria Teresa Auricchio pelo apoio técnico e ajuda nas viagens e à grande amiga Eliete Pardono pela agradável companhia nas viagens de campo e por sua disponibilidade em ajudar sempre que preciso.

À sempre disposta amiga e colega de trabalho Lilian Kimura, pelo grande empenho na construção das genealogias, pela ajuda na parte laboratorial e na utilização dos programas estatísticos.

Agradeço aos Danis, Daniel Rincón e Daniela Uehara pelo auxílio na construção das genealogias e aos demais colegas e ex-colegas do Laboratório de Genética Humana e adjacências, dos quais sentirei muitas saudades: Ana Carla, Karina, Ronaldo, Andrea, Renata, Nelson, Inês, Jihane, Rafaella, Jacaré, Fernando, Juliana, Ana Cristina, Sylvie, Silvia, Carla, Carola, Larissa, Beto, Lígia, Mara, Fátima e Paulo.

Às Profas. Dras. Angela Morgante e Luciana Haddad pelo constante interesse pelo meu trabalho e disponibilidade em ajudar.

Às técnicas do Centro de Estudos do Genoma Humano, Camila Juncansen e Martha Lima Cozzo pelo auxílio técnico com as genotipagens automáticas.

Aos motoristas do IBUSP pela competência e alegria durante as viagens.

Agradeço à minha família, Martha, Marcelo, Lili, Conchita e Yaya pelo apoio e carinho, em especial à minha mãe Alba, por tudo que me ensinou e ainda me ensina, por seu amor incondicional e acima de tudo, por sua impressionante e contagiante força interior, sem a qual esse trabalho não teria sido concluído.

Ao meu namorado Edu por seu amor, apoio e compreensão, pelas palavras de incentivo e por estar ao meu lado nesse momento tão importante de minha vida. Agradeço também à Lia, Edução, Fê, Marcel, Talita, Fil e Bia pela torcida.

Aos meus amigos pelo incentivo e pelas horas de lazer, responsáveis por tornar essa jornada muito mais agradável.

Ao CNPq e à FAPESP pelo auxílio financeiro.

Ao Depto. de Genética e Biologia Evolutiva do IBUSP, pela infra-estrutura que permitiu a realização desse estudo.

Aos indivíduos das comunidades quilombolas, especialmente aos líderes e agentes de saúde, pela colaboração, sem a qual não teríamos concretizado esse trabalho.

Índice Geral

Resumo	1
Abstract	3
I. Introdução	5
I.1. Definição de obesidade	6
I.2. A obesidade como um problema de saúde pública	6
I.3. Fisiologia da regulação do peso corporal	11
I.4. Classificação da obesidade segundo a etiologia	14
I.4.1. Obesidade síndrome	16
I.4.2. Obesidade não-sindrômica monogênica	16
I.4.3. Obesidade multifatorial ou comum	19
I.5. Metodologias para o estudo da obesidade comum	20
I.5.1. Estudos de associação	20
I.5.2. Estudos de ligação em famílias	22
I.6. Genes candidatos	23
I.7. Polimorfismo A19G do gene <i>LEP</i>	25
I.8. Polimorfismo Gln223Arg do gene <i>LEPR</i>	26
I.9. Polimorfismo Arg16Gly do gene <i>ADRB2</i>	26
I.10. Polimorfismo Pro12Ala do gene <i>PPARG</i>	29
I.11. Polimorfismo 6209T>C do gene <i>PLIN</i>	31
I.12. Polimorfismo -420C>G do gene <i>RETN</i>	34
I.13. Polimorfismo rs7566605 do gene <i>INSIG2</i>	37
I.14. O modelo dos remanescentes de quilombos e sua contribuição ao estudo da obesidade	40
II. Objetivos	43
III. Materiais e Métodos	45
III.1. Amostras	46
III.2. Coleta de dados	47

III.2.1. Cálculo do Índice de Massa Corpórea (IMC) e outros parâmetros antropométricos	49
III.2.2. Construção de genealogias	50
III.3. Métodos de análise molecular	50
III.3.1. Extração de DNA genômico	50
III.3.2. Determinação dos alelos dos polimorfismos	50
III.3.2.1. Polimorfismo A19G do gene <i>LEP</i>	51
III.3.2.2. Polimorfismo Gln223Arg do gene <i>LEPR</i>	52
III.3.2.3. Polimorfismo Arg16Gly do gene <i>ADRB2</i>	53
III.3.2.4. Polimorfismo Pro12Ala do gene <i>PPARG</i>	54
III.3.2.5. Polimorfismos 6209T>C do gene <i>PLIN</i> , -420C>G do gene <i>RETN</i> e rs7566605 do gene <i>INSIG2</i>	57
III.4. Análises estatísticas	58
III.4.1. Estudo populacional da obesidade	58
III.4.2. Estudos de associação entre polimorfismos e caracteres relacionados à obesidade	60
III.4.2.1. Análises caso-controle	60
III.4.2.2. Análise de comparação entre as medianas do IMC, da Cc e da RCQ em indivíduos com diferentes genótipos	60
III.4.2.3. Análises de regressão	61
III.4.2.4. Análises de segregação nas genealogias	61
IV. Resultados	63
<hr/>	
IV.1. Caracterização Antropométrica das Populações Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira	64
IV.1.1. Estatística descritiva e comparação entre os sexos	64
IV.1.2. Distribuição do Índice de Massa Corpórea	67
IV.3. Estudo da influência das Variáveis Sexo, Idade, Grau de Atividade Física, tabagismo e ingestão de álcool sobre o IMC, a Cc e a RCQ	69
IV.4. Frequência dos alelos e genótipos dos polimorfismos	79
IV.5. Estudos de associação caso-controle	80

IV.6. Comparação das medianas do IMC, Cc e RCQ entre indivíduos com diferentes genótipos	101
IV.7. Análise de regressão linear múltipla incluindo os genótipos	110
IV.8. Análise de Regressão Logística incluindo os genótipos	117
IV.9. Análise de segregação nas genealogias	137
V. Discussão	145
<hr/>	
V.1. Caracterização Antropométrica das Populações Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira	147
V.2. Estudos de associação dos polimorfismos aos fenótipos de obesidade	153
V.2.1. Polimorfismo A19G no gene <i>LEP</i>	153
V.2.2. Polimorfismo Gln223Arg no gene <i>LEPR</i>	155
V.2.3. Polimorfismo Arg16Gly no gene <i>ADRB2</i>	158
V.2.4. Polimorfismo Pro12Ala no gene <i>PPARG</i>	161
V.2.5. Polimorfismo 6209T>C no gene <i>PLIN</i>	163
V.2.6. Polimorfismo -420C>G no gene <i>RETN</i>	165
V.2.7. Polimorfismo rs7566605 no gene <i>INSIG2</i>	166
V.2.8. Análise de segregação nas genealogias	168
VI. Conclusões	170
<hr/>	
VII. Referências Bibliográficas	173
<hr/>	
Anexo 1	195
Anexo 2	197
Anexo 3	199
Anexo 4	201
Anexo 5	206

Índice de Figuras

Figura 1	8
Estimativa da prevalência do IMC acima de 25Kg/m ² e acima de 30 Kg/m ² em países de diferentes regiões do mundo para o ano de 2005.	
Figura 2	9
Prevalência de déficit de peso, peso normal, sobrepeso + obesidade e obesidade na população brasileira adulta masculina e feminina.	
Figura 3	10
Prevalência do déficit de peso, sobrepeso + obesidade e obesidade na população adulta brasileira em cada sexo e em cada classe de rendimento familiar per capita.	
Figura 4	11
Evolução da prevalência do déficit de peso, sobrepeso + obesidade e obesidade na população adulta brasileira em cada sexo.	
Figura 5	12
Evolução da prevalência do déficit de peso, sobrepeso + obesidade e obesidade na população adulta brasileira em cada sexo e em cada região do país.	
Figura 6	15
Regulação fisiológica do balanço energético.	
Figura 7	42
Mapas dos estados de São Paulo e Paraná com a localização geográfica do Vale do Ribeira e das comunidades estudadas.	
Figura 8	42
Localização das comunidades remanescentes de quilombo estudadas.	
Figura 9	52
Fotografia de um gel de poliacrilamida que mostra os alelos do polimorfismo A19G do gene <i>LEP</i> .	
Figura 10	53
Fotografia de um gel de poliacrilamida que mostra os alelos do polimorfismo Gln223Arg do gene <i>LEPR</i> .	
Figura 11	55
Fotografia de um gel de agarose que mostra os alelos do polimorfismo Arg16Gly do gene <i>ADRB2</i> .	
Figura 12	56
Fotografia de um gel de poliacrilamida que mostra os alelos do polimorfismo Pro12Ala do gene <i>PPARG</i> .	
Figura 13	59
Resultado da genotipagem automática dos polimorfismos 6209T>C do gene <i>PLIN</i> , -420C>G do gene <i>RETN</i> e rs7566605 do gene <i>INSIG</i> .	
Figura 14	68
Frequência de indivíduos em cada faixa de IMC na população total, em homens e em mulheres.	

Figura 15	69
Porcentagem de homens e mulheres com subpeso + normais, com sobrepeso e obesos.	
Figura 16	70
Porcentagem de homens e mulheres com subpeso + normais, com sobrepeso e obesos em cada população estudada.	
Figura 17	74
Distribuição das freqüências dos valores de GAF em homens e mulheres.	
Figura 18	74
Distribuição das freqüências dos valores do GAF em homens e mulheres de acordo com o IMC.	
Figura 19	138
Distribuição das variáveis IMC, Cc e RCQ em todos os indivíduos utilizados nas análises de segregação nas genealogias, e separados por sexo.	
Figura 20	149
Freqüência de indivíduos com $IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$, $25 \leq IMC < 30 \text{ Kg/m}^2$ e $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ nas populações brasileiras urbana e rural e nas populações remanescentes de quilombo do Vale do Ribeira.	

Índice de Tabelas

Tabela I	17
Relação de síndromes genéticas humanas descritas até o momento em que a obesidade faz parte do fenótipo.	
Tabela II	18
Mutações em um único gene descritas até o momento responsáveis por causar obesidade do tipo monogênica.	
Tabela III	25
Evolução dos achados sobre a genética da obesidade no período de 1994 a 2005.	
Tabela IV	27
Estudos de associação de variantes presentes no gene <i>LEP</i> e fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela V	28
Estudos de associação de variantes presentes no gene <i>LEPR</i> e fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela VI	30
Estudos de associação de variantes presentes no gene <i>ADRB2</i> e fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela VII	32
Estudos de associação de variantes presentes no gene <i>PPARG</i> e fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela VIII	35
Estudos de associação de variantes presentes no gene <i>PLIN</i> e fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela IX	38
Estudos de associação de variantes presentes no gene <i>RETN</i> e fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela X	39
Estudos que analisaram a associação do polimorfismo rs7599906, próximo ao gene <i>INSIG2</i> , a fenótipos relacionados à obesidade.	
Tabela XI	47
Número total de habitantes de cada comunidade, número de habitantes com 17 anos ou mais, número de indivíduos estudados e porcentagem de cobertura do estudo.	
Tabela XII	48
Valor do GAF atribuído a cada indivíduo levando em consideração o tipo de atividade diária.	
Tabela XIII	49
Classificação dos indivíduos de acordo com seu IMC.	
Tabela XIV	57
Seqüência dos <i>primers</i> utilizados para a genotipagem automática dos polimorfismos nos genes <i>PLIN</i> , <i>RETN</i> e <i>INSIG2</i> .	
Tabela XV	65
Análise descritiva dos parâmetros antropométricos estudados na população total e sua comparação entre homens e mulheres.	

Tabela XVI	66
Descrição dos escores Z do peso, altura, IMC, perímetro braquial, pregas tricipital e subescapular e soma das pregas, obtidas dos indivíduos estudados.	
Tabela XVII	67
Frequência de indivíduos com escores Z, referentes ao peso, altura e IMC, abaixo de -2, entre -2 e 2 e acima de 2.	
Tabela XVIII	73
Comparação dos parâmetros estudados nos grupos de homens e mulheres com $IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$ e $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$.	
Tabela XIX	75
Comparação das frequências dos valores de GAF entre homens e mulheres.	
Tabela XX	75
Comparação das frequências dos valores de GAF entre homens e mulheres com $IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$ e $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$.	
Tabela XXI	76
Resultados das análises de regressão linear múltipla.	
Tabela XXII	78
Resultados das análises de regressão logística realizadas para cada sexo.	
Tabela XXIII	81
Frequência dos alelos e genótipos nos sete polimorfismos em cada população e na amostra total.	
Tabela XXIV	85
Comparação das frequências dos alelos e genótipos dos polimorfismos estudados em mulheres e homens com $IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$ e $IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$.	
Tabela XXV	89
Comparação das frequências dos alelos e genótipos dos polimorfismos estudados em mulheres e homens com $IMC < 30 \text{ Kg/m}^2$ e $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$.	
Tabela XXVI	93
Comparação das frequências dos alelos e genótipos dos polimorfismos estudados em mulheres com $Cc < 80 \text{ cm}$ e $Cc \geq 80 \text{ cm}$ e homens com $Cc < 94 \text{ cm}$ e $Cc \geq 94 \text{ cm}$.	
Tabela XXVII	97
Comparação das frequências dos alelos e genótipos dos polimorfismos estudados em mulheres com $RCQ < 0,81$ e $RCQ \geq 0,81$ e homens com $RCQ < 0,96$ e $RCQ \geq 0,96$.	
Tabela XXVIII	101
Comparação entre as medianas do IMC entre os indivíduos com cada um dos três genótipos e com os genótipos agrupados.	
Tabela XXIX	104
Comparação entre as medianas da Cc entre os indivíduos com cada um dos três genótipos e com os genótipos agrupados.	
Tabela XXX	107
Comparação entre as medianas da RCQ entre os indivíduos com cada um dos três genótipos e com os genótipos agrupados.	

Tabela XXXI	111
Resultados das análises de regressão linear que utilizaram como variável dependente o IMC, a Cc e a RCQ e como variáveis independentes sexo, idade, GAF, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e os polimorfismos. Análises realizadas independentemente para cada polimorfismo.	
Tabela XXXII	112
Resultados das análises de regressão linear que utilizaram como variável dependente o IMC, a Cc e a RCQ e como variáveis independentes sexo, idade, GAF, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e os polimorfismos.	
Tabela XXXIII	113
Resultados das análises de regressão linear, para cada sexo, que utilizaram como variável dependente o IMC, a Cc e a RCQ e como variáveis independentes sexo, idade, GAF, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e os polimorfismos. Análises realizadas independentemente para cada polimorfismo.	
Tabela XXXIV	116
Resultados das análises de regressão linear, para cada sexo, que utilizaram como variável dependente o IMC, a Cc e a RCQ e como variáveis independentes sexo, idade, GAF, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e os polimorfismos.	
Tabela XXXV	118
Resultados das análises de regressão logística com IMC ($IMC \geq 25Kg/m^2$) como variável dependente e como variáveis independentes a idade, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e cada polimorfismo.	
Tabela XXXVI	123
Resultados das análises de regressão logística, realizada somente para as mulheres, utilizando o IMC ($IMC \geq 30 Kg/m^2$) como variável dependente e como variáveis independentes a idade, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e cada polimorfismo.	
Tabela XXXVII	126
Resultados das análises de regressão logística com Cc como variável dependente e como variáveis independentes a idade, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e cada polimorfismo estudado.	
Tabela XXXVIII	131
Resultados das análises de regressão logística com a RCQ como variável dependente e como variáveis independentes a idade, tabagismo, consumo de bebida alcoólica e cada polimorfismo estudado.	
Tabela XXXIX	139
Descrição do número de indivíduos e caracterização das famílias utilizadas nas análises de segregação nas genealogias.	
Tabela XL	139
Descrição das variáveis fenotípicas IMC, Cc e RCQ e coeficientes de correlação entre pares de irmãos e primos em todos os indivíduos e em cada sexo separadamente.	
Tabela XLI	140
Descrição da co-variável idade e coeficientes de correlação entre pares de irmãos e primos em todos os indivíduos e em cada sexo separadamente.	
Tabela XLII	141
Número total de indivíduos e número de homens e mulheres que foram estudados e heterozigose observada em cada loco.	
Tabela XLIII	141
Herdabilidades referentes aos traços fenotípicos IMC, Cc e RCQ.	

Tabela XLIV	143
Resultado da análise que testou a presença de estratificação populacional na amostra constituída pelos indivíduos das 53 famílias estudadas.	
Tabela XLV	143
Resultado das análises de associação de cada um dos sete polimorfismos ao IMC, RCQ e Cc, utilizando pares de irmãos das 53 famílias estudadas.	
Tabela XLVI	144
Resultado da análise que testou a associação total na amostra constituída de todos os indivíduos genotipados presentes nas 53 famílias	
Tabela XLVII	147
Resumo dos resultados positivos e negativos de associação dos fenótipos relativos à obesidade aos polimorfismos.	

Resumo

A obesidade comum, determinada por mecanismo de herança multifatorial, é atualmente um dos problemas mais importantes de saúde pública no mundo. Estudos de associação entre polimorfismos em genes candidatos e a predisposição à obesidade têm sido realizados em diferentes populações a fim de tentar esclarecer as bases genéticas que controlam o acúmulo de gordura corporal. Esse trabalho teve por objetivo principal estudar a associação dos polimorfismos *LEP A19G*, *LEPR Gln223Arg*, *ADRB2 Arg16Gly*, *PPARG Pro12Ala*, *PLIN 6209T>C*, *RETN -420C>G* e *INSIG2 rs7566605* a medidas antropométricas relacionadas ao fenótipo de obesidade, tais como Índice de Massa Corporal (IMC), Circunferência da Cintura (Cc) e Razão Cintura/Quadril (RCQ) em populações afro-descendentes e remanescentes de quilombos, localizadas no Vale do Ribeira-SP. Além disso, procuramos identificar os principais fatores ambientais que influenciam o acúmulo de gordura corporal nessas populações. Nossa amostra constituiu-se de cerca de 790 indivíduos genotipados em relação a esses sete polimorfismos dos quais foram coletadas medidas de peso, altura, circunferências da cintura e do quadril, pregas cutâneas tricípital e subescapular e informações sobre o seu Grau de Atividade Física (GAF), tabagismo e consumo de álcool. Para os estudos de associação, os indivíduos foram analisados de duas formas distintas: como indivíduos independentes e agrupados em 53 genealogias. As metodologias de estudo caso-controle, comparação entre os valores das medianas entre indivíduos com diferentes genótipos e análises de regressão linear e logística foram empregadas quando estudamos os indivíduos de forma independente. Testes de estratificação populacional, associação total e associação dentro das famílias, utilizando pares de irmãos, foram realizados por meio do pacote computacional QTDT (*Quantitative Transmission Disequilibrium Test*). Nossos resultados indicaram uma maior frequência de indivíduos com sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ Kg/m}^2$) e obesos ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) entre as mulheres (52% e 17,5%, respectivamente) do que entre os homens (17,5% e 2,75%, respectivamente), devido provavelmente à diferença em relação ao GAF, que é maior no grupo dos homens. Apesar de o GAF estar relacionado às diferenças observadas entre homens e mulheres em relação ao IMC, ele não explica as diferenças encontradas em relação ao IMC, Cc e RCQ entre indivíduos do mesmo sexo. Análises de regressão indicaram que os parâmetros não-genéticos que parecem melhor explicar as variações do IMC são o sexo e o tabagismo; da Cc são o sexo, a idade e o tabagismo e da RCQ, a idade e o sexo. Análises de regressão logística indicaram que entre as mulheres, o aumento do risco de apresentar fenótipos de sobrepeso, medidos por meio do IMC, Cc e RCQ, está relacionado ao fato de não fumar, consumir bebida alcoólica e ter maior idade.

As análises de associação indicaram que nessas populações o alelo Gln do polimorfismo *LEPR Gln23Arg* está associado a valores maiores de IMC nas mulheres e RCQ nos homens, conforme apontaram as análises caso-controle, de comparação entre medianas e regressões linear e logística. O alelo Arg do polimorfismo *ADRB2 Arg16Gly* está associado a

valores maiores de Cc e RCQ apenas entre os homens, conforme indicaram as análises de comparação entre as medianas e regressão linear. O alelo Ala do polimorfismo *PPARG Pro12Ala* está associado a valores maiores de IMC, Cc e RCQ nas mulheres, conforme apontaram as análises caso-controle, de comparação entre medianas e regressão linear. O alelo A do polimorfismo *PLIN 6209T>C* está associado a valores maiores de IMC e Cc entre as mulheres e a valores maiores de IMC, Cc e RCQ entre os homens, conforme indicaram os resultados obtidos com a análise de comparação entre medianas, regressão linear e regressão logística. Apenas entre as mulheres o alelo G do polimorfismo *RETN -420C>G* mostrou-se associado a valores mais altos de IMC e Cc de acordo com os resultados obtidos com a comparação entre medianas e com a regressão logística. Os resultados obtidos com as análises caso-controle e de comparação entre medianas indicaram que o alelo C do polimorfismo *INSIG2 rs7566605* está associado a valores maiores de Cc nas mulheres e IMC nos homens. O único resultado positivo de associação detectado por meio da análise de pares de irmãos refere-se ao polimorfismo *LEP A19G* e o IMC, sendo o alelo G o que está associado aos valores maiores em ambos os sexos. Em resumo, nossos resultados sugerem a participação dos genótipos nos genes *LEP*, *LEPR*, *ADRB2*, *PPARG*, *PLIN*, *RETN* e *INSIG2* na predisposição à obesidade nas populações de remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira.

Abstract

Obesity, which is determined by multifactorial inheritance, is currently one of the most important issues concerning public health all over the world. Studies on the association of polymorphisms in genes with a possible role in the susceptibility to obesity have been conducted in different populations in the world, in order to elucidate the genetic basis that control the accumulation of body fat. This work had as the main goal to study the association of the polymorphisms *LEP A19G*, *LEPR Gln223Arg*, *ADRB2 Arg16Gly*, *PPARG Pro12Ala*, *PLIN 6209T>C*, *RETN -420C>G* and *INSIG2 rs7566605* to the anthropometrical measurements related to the phenotype of obesity, such as Body Mass Index (BMI), Waist Circumference (WC) and Waist to Hip Ratio (WHR) in african-derived populations from remnants of quilombos, located in Ribeira Valley, in State of São Paulo, Brazil. Furthermore, we sought to identify the main environmental factors that influenced the accumulation of body fat in these populations. Our sample comprises about 790 individuals genotyped in relation to these seven polymorphisms, from which measurements of weight, height, hip and waist circumferences, tricipital and subscapular skinfolds, and information about the Physical Activity Level (PAL), alcohol and tobacco consumption were obtained. For the association studies, the individuals were analyzed in two distinct ways: as independent individuals or grouped in 53 genealogies. The methodologies of case-control study, comparison between the medians among individuals with different genotypes, linear and logistic regression analysis were applied when we studied the individuals in the independent approach. Tests of population stratification, total association and association within the families, using pairs of siblings, were conducted by the computational pack QTDT (Quantitative Transmission Disequilibrium Test). Our results indicated a higher incidence of overweighted ($BMI \geq 25 \text{ Kg/m}^2$) and obese individuals ($BMI \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) among women (52% and 17,5%, respectively) than among men (17,5% and 2,75%, respectively), probably due to the difference in the PAL, which is higher among men. Although the PAL is related to the differences in BMI observed between men and women, it does not explain the differences in relation to the BMI, WC and WHR found among individuals of the same sex. Regression analyses indicated that the non-genetic parameters that better explain the variations of BMI are sex and tobacco consumption; for WC are sex, age and tobacco consumption and for the WHR are age and sex. Logistic regression analyses indicated that among women, the increase in risk of presenting overweight, measured by the BMI, WC and WHR is related to not smoking (BMI, WC), consuming alcohol (BMI) and being elder (WC, WHR). The association analyses indicated that in these populations, the allele Gln of the polymorphism *LEPR Gln23Arg* is associated to higher values of BMI in women and WHR in men, as the case-control, median comparisons and linear regressions analyses indicated. The allele Ala of the polymorphism *PPARG Pro12Ala* is associated to higher values of BMI and WC among women and higher values of BMI, WC and WHR among men, according to the results obtained with the median comparison, and linear and logistic regressions analyses. Only among women, the allele G of

the polymorphism *RETN* -420C>G was associated to higher BMI and WC values, as from the analysis of comparison of medians, and logistic regression indicated. The results obtained with the case-control analyses and median comparisons, suggested that the allele C of the polymorphism *INSIG2* rs7566605 is associated to higher values of WC in women and BMI in men. The only positive result of association detected by the analysis of pairs of siblings is related to the polymorphism *LEP* A19G and the BMI. The allele G is associated to higher values of BMI in both sexes. As a summary, our results indicate the participation of the genotypes in genes *LEP*, *LEPR*, *ADRB2*, *PPARG*, *PLIN*, *RETN* and *INSIG2* in the susceptibility to obesity in african-derived populations from quilombos in Ribeira River Valley.

I. Introdução

I.1. Definição de obesidade

Segundo Spiegelman e Flier (2001) a obesidade pode ser definida como o estado de aumento do peso corporal, mais especificamente do tecido adiposo, de magnitude suficiente para produzir conseqüências adversas à saúde. A obesidade ocorre devido a uma disfunção crônica do balanço energético do organismo. Ela é o resultado do desequilíbrio constante entre o consumo alimentar e o gasto energético, o que acaba, em última instância, ocasionando uma condição fisiológica em que há o depósito excessivo de gordura corporal.

O cálculo do Índice de Massa Corpórea (IMC) é o método mais utilizado para avaliar a obesidade em humanos. Esse índice é uma medida relativa do peso do indivíduo, em kilogramas, ajustado para sua altura, em metros ($IMC = \text{peso Kg/altura m}^2$). A classificação do IMC dos indivíduos adultos, proposta oficialmente pela Organização Mundial de Saúde (OMS), é útil para a identificação de indivíduos que possuem risco de morbidade e mortalidade devido à obesidade. Segundo essa classificação, os indivíduos com $IMC < 18,5$ são considerados com subpeso. Os indivíduos com $18,5 \leq IMC < 25$ são considerados como apresentando peso normal. Os indivíduos com $25 \leq IMC < 30$ são aqueles com sobrepeso. São considerados obesos aqueles que possuem $IMC \geq 30$. Esses são subdivididos em obesos de classe I ($30 \leq IMC < 35$), de classe II ($35 \leq IMC < 40$) e obesos de classe III ($IMC \geq 40,0$), sendo que essa subdivisão está relacionada ao risco de desenvolvimento de doenças associadas.

A obesidade não é apenas um problema de ordem estética, social ou psicológica. Ela está fortemente associada a diversas outras doenças, chamadas de co-morbidades, tais como diabetes, hipertensão, dislipidemias, doenças coronárias, afecções pulmonares, osteoartrites, entre outras (Lean e col., 1998; Kopelman, 2000). Essas co-morbidades contribuem para aumentar a taxa de mortalidade causada pela obesidade. De fato, numerosos estudos apontam que essa taxa aumenta em função do aumento do peso corporal (Manson, 1995; Calle e col., 1999).

I.2. A obesidade como um problema de saúde pública

Nos últimos anos, a obesidade se tornou um dos mais sérios problemas de saúde pública no mundo. O aumento da prevalência da obesidade ao redor do mundo levou a OMS a classificá-la como uma epidemia global (World Health Organization, 1998). Hoje a obesidade é considerada uma doença crônica tanto pelo sofrimento que causa nos indivíduos afetados como pelo alto custo que traz aos sistemas de saúde pública e às sociedades como um todo (Ravussin & Bouchard, 2000). Segundo dados da OMS (<http://www.who.int>), estima-se que existam cerca de 1 bilhão de adultos com sobrepeso e obesidade ($IMC \geq 25 \text{Kg/m}^2$) no mundo e destes, cerca de 300 milhões são considerados clinicamente obesos ($IM \geq 30 \text{Kg/m}^2$). Acredita-se que atualmente a sua prevalência já ultrapassa a das doenças infecciosas e a da subnutrição o que, conseqüentemente, torna a obesidade um dos fatores que mais contribui para o conjunto

de doenças ao redor do mundo. A maior causa dessa crescente epidemia parece ser a mudança ambiental (ou no estilo de vida) pelas quais as sociedades ocidentais vêm passando. A crescente urbanização, o rápido avanço tecnológico e a disponibilidade de alimentos extremamente calóricos promovem uma ingestão excessiva de calorias e pouca atividade física.

Os indivíduos obesos e com sobrepeso correspondem a uma porcentagem significativa das populações de diversos países, sejam eles países de primeiro mundo, países em desenvolvimento ou países subdesenvolvidos. A Figura 1 foi construída a partir dos dados da OMS (<http://www.who.int>). Ela apresenta, em relação ao ano de 2005, uma estimativa da prevalência de indivíduos com sobrepeso e obesos (IMC igual ou maior que 25 Kg/m²) e de indivíduos obesos (com IMC igual ou maior que 30 Kg/m²) em diversos países com distintos graus de desenvolvimento, etnias e culturas.

Nota-se que em alguns países, tais como EUA e Argentina, mais de 30% da população é obesa. Países africanos têm baixa prevalência de obesidade, como é esperado devido à pobreza que assola grande parte dessa região. Países asiáticos tais como a China e o Japão também têm baixa prevalência de obesidade provavelmente devido a fatores culturais e ao tipo de alimentação. O Brasil encontra-se entre os países onde a prevalência da obesidade assume valores intermediários, embora mais de 15% das mulheres brasileiras estejam obesas. É interessante observar que nos países pobres, como os da África, a Indonésia e o Paquistão, praticamente não existe obesidade entre os homens. Apenas as mulheres apresentam essa condição. Em relação à prevalência do sobrepeso somado à obesidade, ou seja, indivíduos com IMC \geq 25 Kg/m² é assustador o número de indivíduos nessa condição em países como EUA, Argentina, México e Arábia, por exemplo, nos quais os indivíduos com IMC \geq 25 Kg/m² representam entre 60 e 70% da população.

O Brasil, por ser um país heterogêneo culturalmente e com distribuição de renda extremamente desigual, possui regiões em que a desnutrição ainda é um sério problema de saúde pública. Porém, em outras regiões mais ricas, a prevalência da obesidade atinge níveis preocupantes. Os dados apresentados nas Figuras 2, 3, 4 e 5 foram retirados do último levantamento realizado pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) nos anos de 2002 e 2003 (Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional do Brasil).

Na Figura 2 encontram-se as prevalências do déficit de peso (IMC < 18 Kg/m²), do sobrepeso somado à obesidade (IMC \geq 25 Kg/m²) e da obesidade (IMC \geq 30 Kg/m²) na população brasileira adulta masculina e feminina, levando-se em consideração todas as regiões do país e todas as classes de rendimentos. Cerca de 40% dos indivíduos adultos do país apresentam sobrepeso e obesidade, ou seja, IMC igual ou maior do que 25 Kg/m², não havendo diferença substancial entre homens e mulheres. Na idade adulta, portanto, a frequência de indivíduos que possuem sobrepeso e obesidade supera a frequência de indivíduos que possuem déficit de peso em oito vezes, no caso da população feminina, e em quinze vezes, no caso da população masculina. Já a obesidade afeta 8,9% dos homens e 13,1% das mulheres do país.

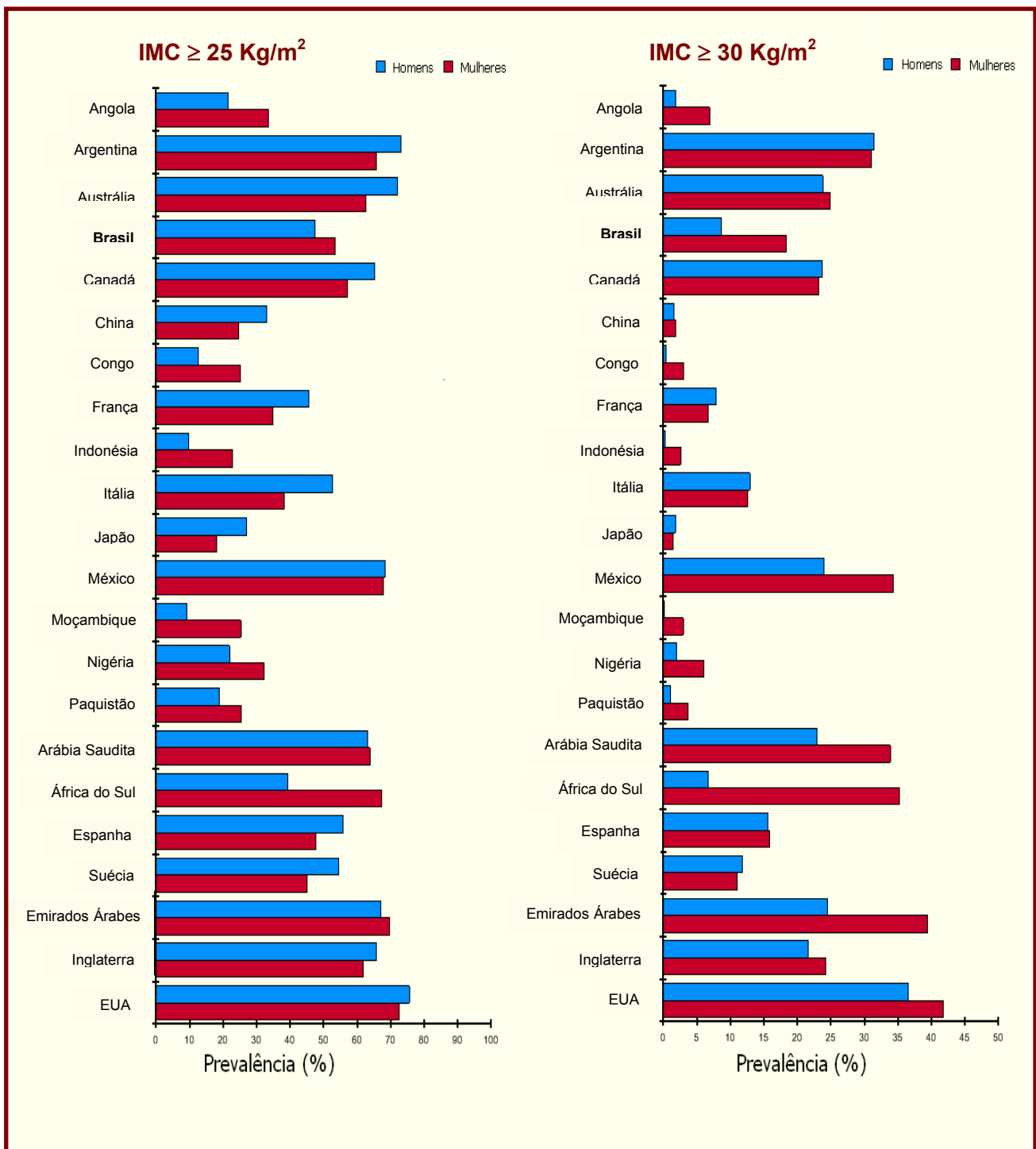


Figura 1: Estimativa da prevalência do IMC igual ou acima de 25Kg/m² e igual ou acima de 30 Kg/m² em países de diferentes regiões do mundo no ano de 2005. Fonte: WHO (<http://www.who.int>).

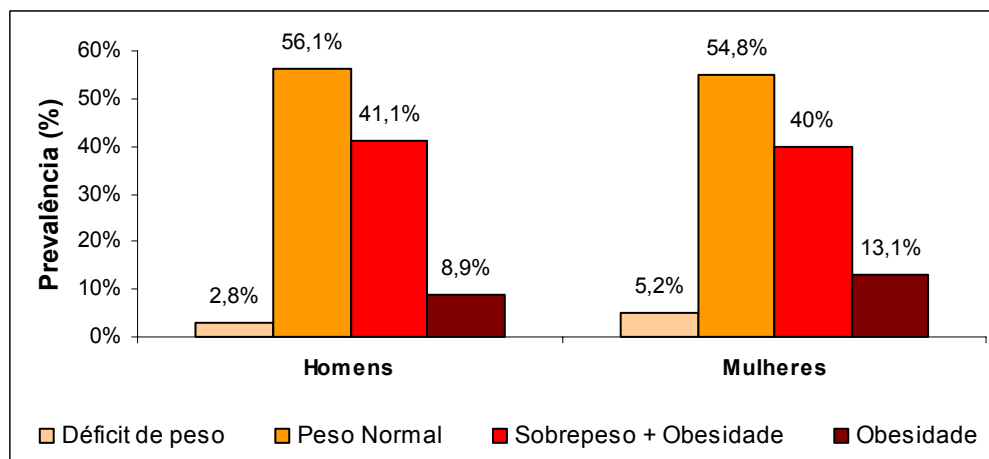


Figura 2: Prevalência de déficit de peso ($IMC < 18 \text{Kg/m}^2$), peso normal ($18 \text{Kg/m}^2 \leq IMC < 25 \text{Kg/m}^2$), sobrepeso + obesidade ($IMC \geq 25 \text{Kg/m}^2$) e obesidade ($IMC \geq 30 \text{Kg/m}^2$) na população brasileira adulta masculina e feminina. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. (Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional do Brasil).

A Figura 3 apresenta os dados de prevalência de déficit de peso, de sobrepeso somado à obesidade e de obesidade na população adulta brasileira masculina e feminina segundo classes de rendimento familiar *per capita*, que variam de até $\frac{1}{4}$ de salário mínimo até mais de cinco salários mínimos mensais. Nota-se que existem diferenças importantes entre homens e mulheres quanto à relação entre renda e prevalência tanto de sobrepeso + obesidade quanto de obesidade. Entre os homens, a prevalência dessas duas condições aumenta de modo uniforme e intenso com a renda, enquanto que entre mulheres a relação com a renda é menos clara, de modo que as maiores prevalências são encontradas nas classes intermediárias de renda.

A Figura 4 descreve a evolução do perfil antropométrico-nutricional das populações adultas brasileiras masculina e feminina. Foram computados os dados de três pesquisas realizadas pelo IBGE nos anos de 1974-1975, 1989 e mais recentemente em 2002-2003. O padrão da evolução da prevalência do déficit de peso é de declínio ao longo das pesquisas, tanto para homens quanto para mulheres. O declínio se mostra particularmente intenso entre as décadas de 1970 e 1980 quando a prevalência do déficit de peso, nos dois sexos, é reduzida em quase 50%. As prevalências do sobrepeso somado à obesidade aumentam intensamente na população masculina, pois mais do que duplicam entre a primeira e a terceira pesquisa, enquanto a prevalência de obesidade mais que triplica em relação à primeira pesquisa. A evolução da prevalência do sobrepeso + obesidade e da obesidade entre as mulheres é distinta nos dois períodos demarcados pelas três pesquisas: aumentos de cerca de 50% entre 1974-1975 e 1989 e relativa estabilidade entre 1989 e 2002-2003.

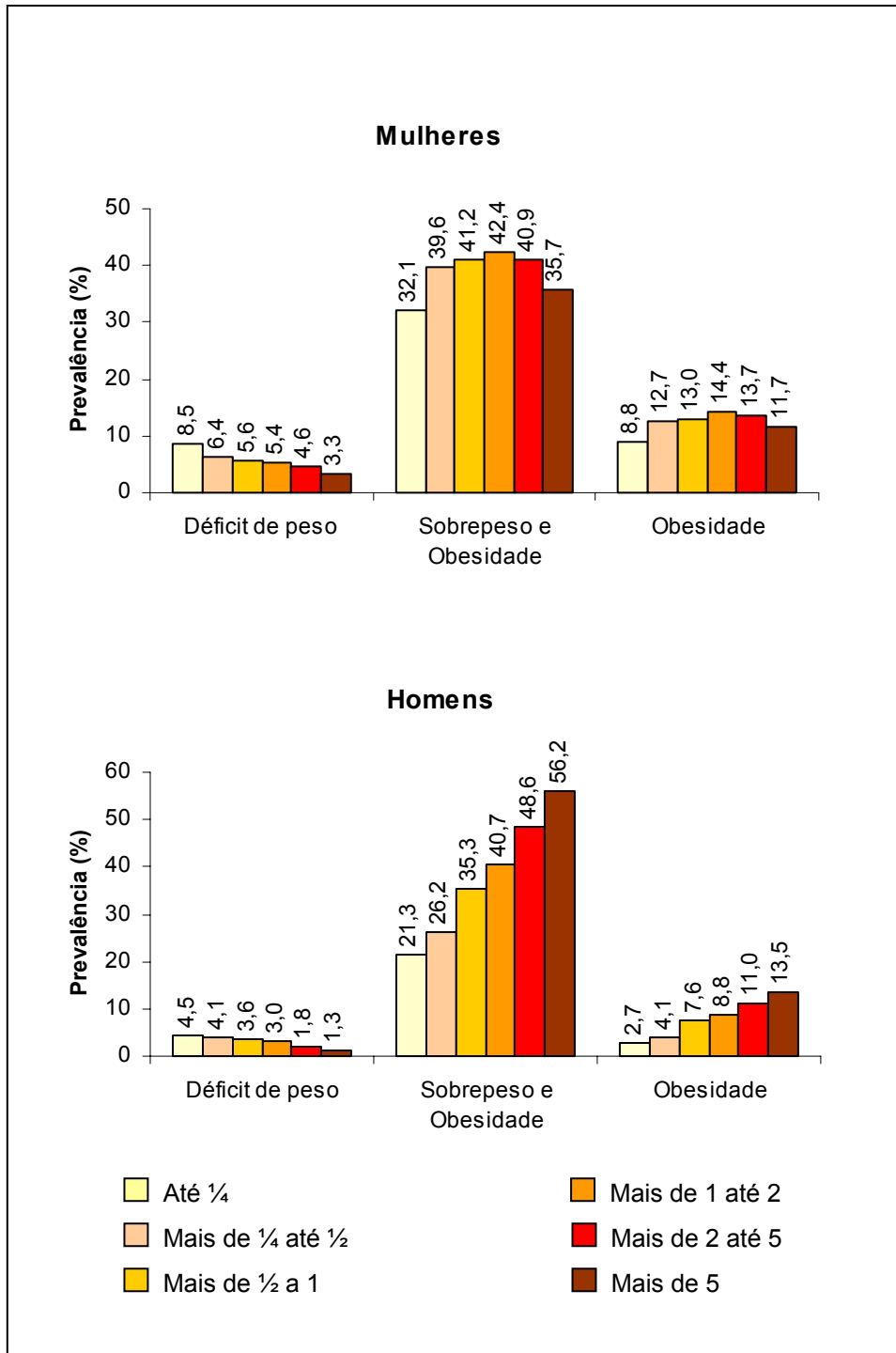


Figura 3: Prevalência do déficit de peso, sobrepeso + obesidade e obesidade na população adulta brasileira em cada sexo e em cada classe de rendimento familiar per capita, variando de até de ¼ a mais de 5 salários mínimos mensais. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional do Brasil).

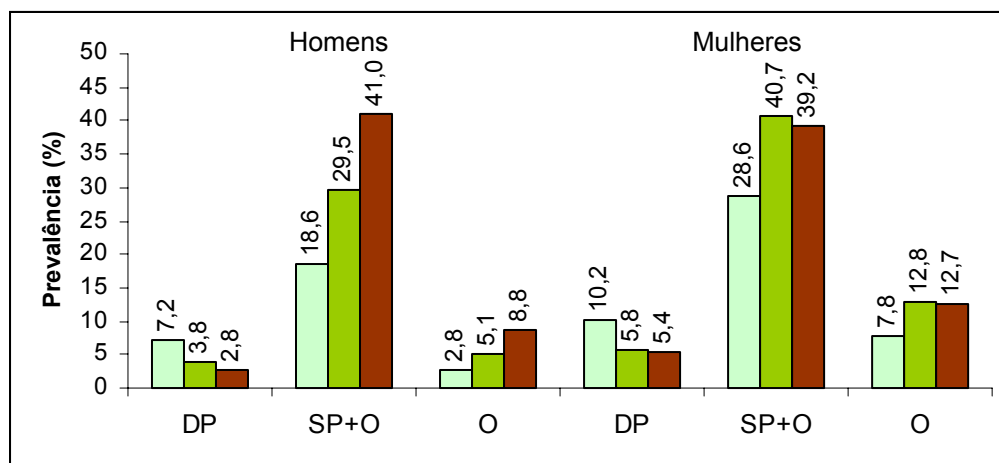


Figura 4: Evolução da prevalência do déficit de peso (DP), sobrepeso e obesidade (SP+O) e obesidade (O) na população adulta brasileira em cada sexo. □ estudo realizado nos anos de 1974 e 1975; ■ estudo realizado no ano de 1989; ■ estudo realizado nos anos de 2002 e 2003. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. (Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional do Brasil).

A Figura 5 apresenta a evolução do perfil antropométrico-nutricional das populações adultas masculina e feminina nas cinco grandes regiões brasileiras. Em linhas gerais, repete-se em cada região o padrão de evolução observado para o país, ficando a exceção por conta da evolução da prevalência do sobrepeso somado à obesidade e da obesidade em mulheres no período de 1989 a 2002-2003. Neste caso, observa-se aumento do sobrepeso + obesidade e da obesidade apenas na Região Nordeste. Nas demais regiões há estabilidade ou mesmo declínio na prevalência dessas condições. Nota-se, ainda, que, em meados da década de 70, o problema da desnutrição na população feminina tinha maior importância nas Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (prevalências entre 11% e 14% - exposição moderada à desnutrição), enquanto a obesidade masculina era rara em todo o país (prevalências entre 1% e 4%).

1.3. Fisiologia da regulação do peso corporal

Ao conjunto de processos biológicos responsáveis pela regulação da quantidade de energia consumida, gasta e armazenada no organismo é dá-se o nome de homeostase energética. Dentro desse sistema existe um mecanismo pelo qual o grau de acúmulo de gordura é comunicado ao cérebro, que por sua vez, funciona como um árbitro das respostas adaptativas responsáveis pelas mudanças no conteúdo de gordura corporal. Com base nesse “modelo lipoestático” Kennedy (1953) propôs, há 50 anos, a hipótese de que essa comunicação seria realizada por fatores (sinais) que circulariam em proporção ao montante de gordura corporal acumulada e agiriam no cérebro para reduzir ou aumentar o consumo de

alimentos. Em uma série elegante de experimentos realizados há mais de 30 anos, Coleman e Hummel (1969) encontraram evidências experimentais da existência de tais sinais humorais que controlariam a gordura armazenada. Porém, a identidade desses sinais ainda não é totalmente conhecida. Algumas moléculas têm mostrado claramente que podem ser enquadradas nesse perfil: a insulina, a leptina, o peptídeo YY₃₋₃₆ e a grelina.

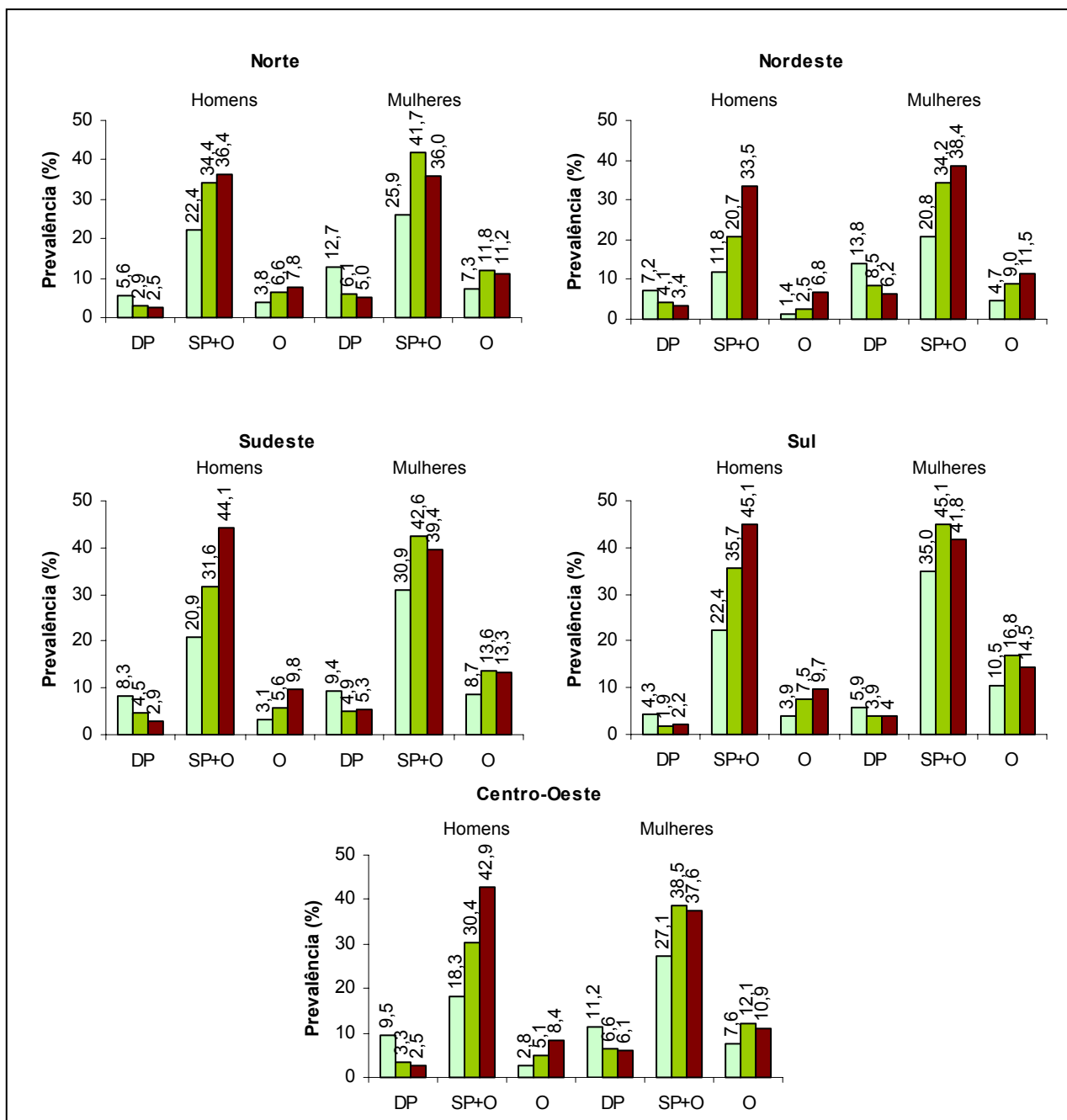


Figura 5: Evolução da prevalência do déficit de peso (DP), sobrepeso e obesidade (SP+O) e obesidade (O) na população adulta brasileira em cada sexo e em cada região do país. □ estudo realizado nos anos de 1974 e 1975; ■ estudo realizado no ano de 1989; ■ estudo realizado nos anos de 2002 e 2003. Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. (Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional do Brasil).

A descoberta da leptina foi um evento notável nas pesquisas sobre o peso corporal (Zhang e col., 1994). Esse hormônio produzido pelos adipócitos circula em proporção ao conteúdo de gordura corporal (Considine e col., 1996), atravessa a barreira sangue-cérebro (Schwartz e col., 1996) e interage com receptores presentes nos neurônios que influenciam o balanço energético. A atuação desses neurônios reduz o armazenamento de gordura por diminuir o consumo de comida e aumentar a termogênese (Schwartz e col., 2000). Camundongos (Friedman & Halaas, 1998) e seres humanos com mutações no gene que codifica a leptina (Montague e col., 1997) ou no gene que codifica seu receptor (Clement e col., 1998) sofrem de uma incontável hiperfagia e obesidade, demonstrando o papel indispensável da sinalização promovida pela leptina na manutenção do peso corporal.

Com a descoberta da leptina, veio a esperança de que a obesidade pudesse ser causada pela deficiência de leptina e que poderia ser revertida pela sua reposição. Infelizmente, ficou claro que a grande maioria dos indivíduos obesos apresenta níveis de leptina circulante relativamente mais altos que o esperado para a quantidade de gordura corporal armazenada que possuem (Considine e col., 1996). Porém, esses níveis não são capazes de reduzir o consumo de alimentos de forma equivalente à que reduziriam em indivíduos magros. Assim, a obesidade comum parece ser uma condição de resistência aos efeitos da leptina. Devido às mutações no gene do receptor da leptina (*LEPR*) serem excessivamente raras (Clement e col., 1998), atualmente dá-se atenção também para a identificação dos eventos moleculares que ocorrem após a ligação da leptina a seus receptores localizados nos neurônios-alvo do hipotálamo.

O balanço energético do organismo, ou seja, o quanto é consumido de energia e o quanto é gasto, é regulado por um sistema fisiológico complexo que compreende a integração de diversos sinais periféricos e a sua coordenação central no cérebro. O hipotálamo funciona como um regulador central nesse sistema. Ele recebe informações a respeito do balanço energético através de sinais neuronais e hormonais que partem de diferentes regiões (núcleos) dentro do próprio hipotálamo - particularmente os núcleos ventro-medial, paraventricular e arqueado, e da área hipotalâmica lateral (Xu e col., 2003). O núcleo arqueado tem um papel fundamental nesse sistema; ele contém dois grupos de neurônios: um grupo produz proteína relacionada a agoutina (AGRP) e neuropeptídeo Y (NPY) e o outro grupo produz pro-opiomelanocortina (POMC) e o transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART). Os neurônios do primeiro tipo são orexigênicos, promovendo a aquisição de alimento e reduzindo o gasto de energia. Os neurônios do segundo tipo produzem um efeito anoréxico oposto (Barsh & Schwartz, 2002).

Sinais endócrinos periféricos podem participar da regulação desse sistema a longo prazo e a curto prazo. A insulina exerce um papel importante no sistema nervoso central, sinalizando a longo prazo qual é o montante de gordura corporal armazenada. Por meio da estimulação dos neurônios POMC/CART e inibição dos neurônios NPY/AGRP, a insulina exerce um efeito anoréxico (Air e col., 2002).

Outros peptídeos, além da leptina e insulina, são responsáveis pela regulação do apetite, o que acontece a curto prazo. Um deles, o peptídeo orexigênico grelina, é secretado primariamente pelo estômago e duodeno. Seus níveis séricos aumentam antes das refeições, diminuindo logo após o indivíduo se alimentar (Kohn e col., 2003). Um outro mediador, o peptídeo YY₃₋₃₆ (PYY₃₋₃₆), é secretado na porção distal do trato gastrointestinal, devido à estimulação provocada pela ingestão de alimentos. Sua concentração sérica atinge níveis máximos em aproximadamente uma hora após a refeição. O peptídeo YY₃₋₃₆ liga-se aos receptores pré-sinápticos Y2, localizados nos neurônios NPY/AGRP, que tem, por sua vez, efeito inibitório, levando ao decréscimo do consumo de alimentos. A saciedade é controlada pela resposta a outros fatores, como a distensão do tubo digestivo e a liberação do peptídeo colecistoquinina (CCK) (Spiegelman & Flier, 2001). A Figura 6, adaptada do trabalho de revisão de Bell e col. (2005), mostra de forma esquemática como acontece a regulação do balanço energético no hipotálamo.

O estudo dessa cadeia fisiológica tem evidenciado quais os possíveis genes candidatos que dão base ao estudo da genética da obesidade. Os estudos genéticos têm contribuído significativamente para a compreensão da fisiologia da regulação do peso corporal, por meio de modelos animais e da investigação dos fatores genéticos relacionados às formas raras e comuns de obesidade humana.

I.4. Classificação da obesidade segundo a etiologia

A obesidade é uma doença que resulta da interação de fatores ambientais (superalimentação e/ou redução da atividade física) e hereditários. Essa conclusão foi obtida a partir de numerosos estudos epidemiológicos realizados em diferentes populações, tais como estudos de gêmeos que foram criados juntos ou separados, estudos com filhos adotivos, estudos com famílias nucleares, entre outros (Sorensen, 1995). A obesidade tem uma expressão fenotípica heterogênea e os mecanismos moleculares envolvidos na sua origem parecem ser muitos e diversos. Reconhece-se hoje a existência de fatores ambientais, comportamentais e socioeconômicos que atuam em indivíduos com diferentes susceptibilidades biológicas. Pode-se classificar a obesidade em três tipos distintos segundo sua etiologia: a obesidade síndrômica, a obesidade não-síndrômica monogênica e a obesidade não-síndrômica multifatorial, ou obesidade comum.

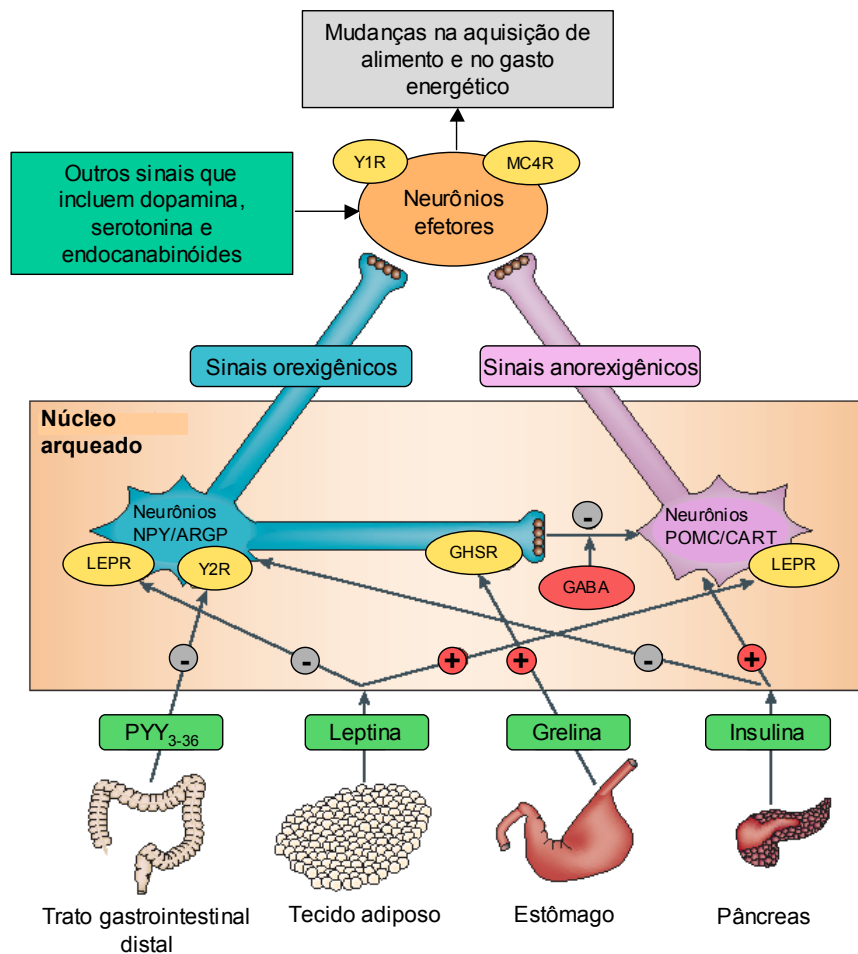


Figura 6: Regulação fisiológica do balanço energético. Os neurônios produtores de neuropeptídeo Y (NPY) e proteína relacionada a agouti (AGRP) e os neurônios produtores de pro-opiomelanocortina (POMC) e transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART) no núcleo arqueado do hipotálamo exercem um papel chave na regulação do balanço energético. A ativação dos neurônios NPY/AGRP tem efeito orexigênico, promovendo a aquisição de mais alimento, enquanto a ativação dos neurônios POMC/CART tem o efeito anorexigênico oposto, promovendo o gasto energético. A POMC é ativada através de modificação pós-traducional dando origem ao hormônio melanócito-estimulante (α -MSH, não mostrado). Essas duas classes de neurônios recebem sinais de vários hormônios. A leptina, secretada pelo tecido adiposo, circula em níveis proporcionais às reservas de gordura corporal e exerce seu efeito através de seu receptor (LEPR), inibindo os neurônios NPY/AGRP e estimulando os neurônios POMC/CART. O pâncreas secreta a insulina, que exerce influência anorexigênica sobre núcleo arqueado. A grelina, produzida pelo estômago e duodeno, estimula os neurônios NPY/AGRP através de seus receptores secretagogos de hormônio de crescimento (GHSRs). O peptídeo YY_{3-36} (PYY_{3-36}) é secretado pelo trato gastrointestinal distal e sinaliza por meio dos receptores Y2 (Y2Rs) um efeito inibitório sobre os neurônios NPY/AGRP. Os neurônios NPY/AGRP também têm um efeito inibitório sobre os neurônios POMC/CART através da liberação do ácido γ -aminobutírico (GABA), que pode ser estimulado pela ligação da grelina aos receptores GHSRs. Os sinais orexigênicos e anorexigênicos produzidos pelos neurônios NPY/AGRP e POMC/CART são então levados até neurônios efetores de segunda ordem, que também recebem sinais modificadores da dopamina, serotonina e endocanabinóides. Esses neurônios efetores expressam receptores que incluem o receptor Y1 (Y1R) e o receptor-4 de melanocortina (MC4R). Esses diversos sinais atuam em conjunto para determinar o equilíbrio entre a aquisição de alimento e o gasto energético. (Modificado de Bell et col., 2005).

I.4.1. Obesidade síndrômica

Inúmeras síndromes pleiotrópicas incluem a obesidade em seu quadro clínico. Esse tipo de obesidade é chamado de obesidade síndrômica. Alguns exemplos notáveis de tais síndromes são Prader-Willi, Bardet-Biedl, Cohen, Alström e lipodistrofia congênita de Berardinelli-Seip, embora muitas outras já tenham sido descritas (Chung & Leibel, 2005). A Tabela I lista as diferentes síndromes descritas até o momento com as quais a obesidade foi associada.

As regiões cromossômicas associadas à maioria delas foram mapeadas a fim de se identificarem os genes e as mutações responsáveis por seus fenótipos. Posteriormente, isso permitirá a descoberta de novas vias relacionadas ao controle do peso corporal. Apesar de muitos genes já terem sido identificados, resta desvendar a ligação fisiopatológica entre seu produto protéico e o desenvolvimento da doença, que é caracterizada por múltiplos traços clínicos que por vezes se sobrepõem, tais como retardo mental, resistência à insulina, entre outros (Stefan & col. 2004). A possibilidade de que esses genes possam contribuir, de um modo menor, na determinação da obesidade comum (multifatorial) deve ser explorada.

I.4.2. Obesidade não-sindrômica monogênica

A obesidade do tipo monogênica se desenvolve devido a mutações em um único gene, que são responsáveis por promover acúmulo excessivo de gordura corporal independentemente de interações gênicas ou fatores ambientais. Esse tipo de obesidade é muito raro e os indivíduos afetados têm um fenótipo muito grave. Os sintomas, que se iniciam na infância, geralmente vêm acompanhados de disfunções comportamentais, de desenvolvimento e endócrinas (Farooqi & O'Rahilly, 2004). A Tabela II apresenta um resumo dos genes até o momento descritos como responsáveis por obesidade monogênica.

A maior parte das formas monogênicas está relacionada a mutações nos genes codificadores de proteínas da cadeia de sinalização leptina-melanocortina - *CRHR1* (receptor do hormônio liberador de corticotropina I), *LEPR* (receptor da leptina), *POMC* (pro-opiomelanocortina), *PC-1* (pro-proteína subtilisina/kexina convertase tipo I), *SIM1* (homólogo I do gene *mind* de *Drosófila*), *CRHR2* (receptor do hormônio liberador de corticotropina II), *LEP* (receptor da leptina), *MC4R* (receptor da melanocortina 4), *MC3R* (receptor da melanocortina 3), *GPR24* (receptor acoplado a proteína G 24) (Perusse e col., 2005). Alterações na sinalização central da melanocortina induzida em murinos transgênicos também produzem fenótipos de obesidade, tanto por meio de mutações em *Agrp* que ocasionam ganho de função, como por meio de mutações em *Ponc*, *Mc4r* ou *Mc3r*, que ocasionam perda de função (Barsh e col., 2000).

Tabela I: Relação de síndromes genéticas humanas descritas até o momento em que a obesidade faz parte do quadro clínico (Adaptado de Rankinen e col., 2006, onde todas as referências estão disponíveis).

Autossômicas recessivas			
n° OMIN	Nome da Síndrome	Localização cromossômica	Gene candidato
203800	Síndrome de Alstrom	2p13.1	<i>ALMS1</i>
209901	Síndrome de Bardet-Biedl 1	11q13.1	<i>BBS1</i>
606151	Síndrome de Bardet-Biedl 2	16q13	<i>BBS2</i>
600151	Síndrome de Bardet-Biedl 3	3p13-p12	<i>BBS3 (ARL6)</i>
600374	Síndrome de Bardet-Biedl 4	15q22.3-q23	<i>BBS4</i>
603650	Síndrome de Bardet-Biedl 5	2q31	<i>BBS5</i>
604896	Síndrome de Bardet-Biedl 6	20p12.2	<i>MKKS</i>
607590	Síndrome de Bardet-Biedl 7	4q27	<i>BBS7</i>
608132	Síndrome de Bardet-Biedl 8	14q32.1	<i>BBS8</i>
269700	Lipodistrofia congênita de Berardinelli-Seip 1	9q34.3	<i>AGPAT2</i>
606158	Lipodistrofia congênita de Berardinelli-Seip 2	11q13	<i>BSCL2</i>
212065	Síndrome de deficiência da glicoproteína carboidrato tipo 1a	16p13.2	<i>PMM2</i>
216550	Síndrome de Cohen	8q22.2	<i>COH1</i>
601538	Deficiência combinada do hormônio pituitário	5q35.3	<i>PROP1</i>
227810	Síndrome de Fanconi-Bickel	3q26.31	<i>SLC2A2</i>
139191	Deficiência isolada do hormônio de crescimento	7p14	<i>GHRHR</i>
Trialélicas digênicas			
n° OMIN	Nome da Síndrome	Localização cromossômica	Gene candidato
138090	Deficiência de cortisona redutase	1pter-p36.13	<i>H6PD</i>
604931	Deficiência de cortisona redutase	1q32-q41	<i>HSD11B1</i>
Digênica			
n° OMIN	Nome da Síndrome	Localização cromossômica	Gene candidato
600917	Resistência à insulina grave com obesidade	3p25 7q31.1	<i>PPARG</i> <i>PPP1R3A</i>
Autossômicas dominantes			
n° OMIN	Nome da Síndrome	Localização cromossômica	Gene candidato
100800	Acondroplasia	4p16.3	<i>FGFR3</i>
103580	AHO (Pseudopseudohipoparatiroidismo)	20q13.2-q13.3	<i>GNAS</i>
103581	AHO 2	15q11-q13	<i>AHO2</i>
600430	Síndrome de retardo mental com braquidactilia	2q37.3	<i>STK25</i> <i>GPC1</i> <i>GPR35</i>
105830	Síndrome de Angelman com obesidade	15q11-q12	<i>ANCR</i>
605746	Anisomastia	16q13-q21	<i>ANMA</i>
160980	Complexo de Carney com doença adenocortical nodular pigmentada primária e síndrome de Cushing (CNC1)	17q24.3	<i>PRKAR1A</i>
605244	Complexo de Carney com doença adenocortical nodular pigmentada primária e síndrome de Cushing (CNC2)	2p16	
604367	Lipodistrofia parcial familiar de Dunnigan tipo 3	3p25	<i>PPARG</i>
151660	Lipodistrofia parcial familiar tipo 3 (tipo Dunnigan)	1q23.1	<i>LMNA</i>
147670	Síndromes de resistência à insulina	19p13.3-p13.2	<i>INSR</i>
139250	Deficiência isolada de GH	17q22-q24	<i>GH1</i>
131100	Neoplasia endócrina múltipla tipo 1 com doença de Cushing	11q13	<i>MEN1</i>

Tabela I: Continuação.

n° OMIN	Nome da Síndrome	Localização cromossômica	Gene candidato
122000	Distrofia córnea polimórfica posterior (cromossomo 1)	1p34.3-p32.3	<i>COL8A2</i>
605020	Distrofia córnea polimórfica posterior (cromossomo 20)	20p11.21	<i>VSX1</i>
176270	Síndrome de Prader-Willi	15q11.2	<i>IPW</i>
		15q11.2	<i>MKRN3</i>
		15q11.2	<i>PWCR1</i>
		15q12	<i>SNRPN</i>
		15q11.2	<i>MAGEL2</i>
		15q11.2	<i>NDN</i>
		15q11-q12	<i>GABRG3</i>
603128	Síndrome semelhante a Prader-Willi (cromossomo 6q)	6q16.3-q21	<i>SIM1</i>
190160	Síndrome de resistência ao hormônio tireoideano	3p24.1	<i>THRB</i>
181450	Síndrome de Ulnar-Mammary (Schinzel)	12q24.21	<i>TBX3</i>
194072	Síndrome de WAGR com obesidade	11p13	<i>WT1</i>
		11p13	<i>PAX6</i>

Ligadas ao X

n° OMIN	Nome da Síndrome	Localização cromossômica	Gene candidato
301900	Síndrome de Borjeson-Forssman-Lehmann	Xq26.3	<i>PHF6</i>
303110	Coroideremia com surdez e obesidade	Xq21.2	<i>CHM</i>
		Xq21.1	<i>DFN3</i>
309550	Síndrome do cromossomo X frágil com fenótipo semelhante a Prader-Willi	Xq27.3	<i>FMR1</i>
300148	Síndrome MEHMO	Xp22.13-p21.1	<i>MEHMO</i>
300218	Retardo mental síndrômico ligado ao X, tipo 7	Xp11.3-q22.1	<i>MRXS7</i>
300458	Retardo mental síndrômico ligado ao X, tipo 16	Xq28	<i>MECP2</i>
300238	Retardo mental síndrômico ligado ao X, tipo 11	Xq26-q27	<i>MRXS11</i>
176270	Síndrome semelhante a Prader-Willi ligada ao X	Xq23-q25	<i>PWLSX</i>
312870	Síndrome de Simpson-Golabi-Behmel 1	Xq26.2	<i>GPC3</i>
		Xq26.1	<i>GPC4</i>
300209	Síndrome de Simpson-Golabi-Behmel 2	Xp22	<i>SGBS2</i>
309585	Síndrome de Wilson-Turner	Xq21.2-q22	<i>WTS</i>

Tabela II: Mutações em um único gene descritas até o momento responsáveis por causar obesidade do tipo monogênica (Adaptado de Rankinen e col., 2006, onde todas as referências estão disponíveis).

n° OMIN	Nome	Localização cromossômica	Gene candidato
122561	Receptor do hormônio liberador de corticotropina-1	17q12-q22	<i>CRHR1</i>
602034	Receptor do hormônio liberador de corticotropina-2	7p14.3	<i>CRHR2</i>
601751	Receptor acoplado a proteína-G - 24	22q13.2	<i>GPR24</i>
164160	Leptina (ortólogo do gene ob de camundongo)	7q31.3	<i>LEP</i>
601007	Receptor da leptina	1p31	<i>LEPR</i>
601665	Receptor da melanocortina-3	20q13.2-q13.3	<i>MC3R</i>
155541	Receptor da melanocortina-4	18q22	<i>MC4R</i>
600456	Receptor tirosina-quinase neurotrópico tipo 2	9q22.1	<i>NTRK2</i>
176830	Proopiomelanocortina	2p23.3	<i>POMC</i>
162150	Subtilisina/kexina pro-proteína convertase tipo 1	5q15-q21	<i>PCSK1</i>
603128	Ortólogo do gene single-minded 1 (Drosófila)	6q16.3-q21	<i>SIM1</i>

Mutações raras que inativam os genes que codificam leptina (*LEP*), receptor da leptina (*LEPR*), pro-opiomelanocortina (*POMC*) e proconvertase 1 (*PC1*) são responsáveis pelo desenvolvimento de um fenótipo muito grave de obesidade, com início nos primeiros anos de vida e que vem associado a diversas anormalidades endócrinas, tais como hipogonadismo, hipotireodismo, ou hipocortisolismo. O modelo de transmissão dessas doenças é o autossômico recessivo. Foram identificadas diversas famílias que com mutações no gene *LEP* (Farooqi & O'Rahilly, 2005; Strosberg & Issad, 1999; Montague e col. 1999), uma família com três indivíduos afetados com mutações no gene *LEPR* (Clément e col., 1998), cinco famílias com mutações no gene *POMC* (Krude e col., 2003) e dois indivíduos com mutações no gene *PC1* (Jackson e col., 1997, 2003).

Diversas mutações no gene codificador do receptor da melanocortina 4 (*MC4R*) foram descritas como responsáveis por obesidade, comportando-se geralmente como autossômicas dominantes com penetrâncias variáveis (Rankinen e col, 2002). Nesses casos, a obesidade deve ser originada pela haploinsuficiência na sinalização de Mc4r, mais do que por mecanismos dominantes negativos (Vaisse e col., 1998; Yeo e col., 1998; Cone, 2000). O fenótipo dos indivíduos com deficiência em Mc4r assemelha-se ao da obesidade comum e não está associado com disfunção hipofisária.

Os estudos das famílias e dos indivíduos com essas mutações em genes relacionados à cadeia fisiológica da leptina validam o papel da cadeia de sinalização leptina-melanocortina no controle da ingestão alimentar e do gasto de energia.

I.4.3. Obesidade multifatorial ou comum

A obesidade comum é considerada uma doença de herança multifatorial (ou doença complexa) pois é fortemente influenciada por fatores genéticos e em um grau menor por fatores ambientais. Daqui para frente denominaremos a obesidade comum apenas de obesidade, uma vez que é esse tipo de obesidade o foco de nosso estudo, que se tornou uma epidemia mundial e vêm requisitando atenção da comunidade científica.

Devido ao crescimento do número de indivíduos obesos ao redor do mundo, o papel dos fatores genéticos na regulação do peso corporal parece difícil de ser compreendido. A quantidade de gordura armazenada não é simplesmente um parâmetro inteiramente pré-determinado geneticamente. Evidências indicam que a obesidade é uma doença oligogênica, cuja expressão pode ser modulada por numerosos genes modificadores, que interagem entre si e também interagem com fatores ambientais, como por exemplo, as escolhas alimentares, atividade física e tabagismo (Boutin & Froguel, 2001). Poucos genes, no entanto, possuem uma importância maior e, quando mutados, causam a obesidade monogênica em praticamente qualquer ambiente. A maioria dos demais genes, entretanto, podem ser considerados genes de susceptibilidade, cada um contribuindo com efeitos relativamente pequenos e agindo em conjunto para influenciar a expressão do fenótipo da obesidade em ambientes permissivos. As estimativas de herdabilidade da obesidade comum, calculadas por meio de inúmeros estudos

de gêmeos monos e dizigóticos, variam de 50 a 80% (Stunkard e col., 1986, 1990; Korkeila e col., 1991; Fabsitz e col., 1992, Cardon e col., 1994; Allison e col., 1994, 1996).

Porque o genoma humano conteria variantes gênicas que favorecem o acúmulo e a manutenção de um nível excessivo de gordura? A explicação reside na hipótese do “genótipo econômico”. De acordo com essa hipótese, durante milhões de anos nossos genes sofreram pressões evolutivas que favoreceram alelos que promoviam ganho de peso, uma vez que o nosso ambiente se caracterizava pelo acesso restrito à comida (Neel, 1962). Os indivíduos geneticamente mais propensos a ter um comportamento alimentar guloso em períodos de escassez e/ou armazenar de forma mais eficiente as calorias ingeridas, teriam uma maior chance de sobreviver aos períodos de fome e, conseqüentemente, maior chance de propagar seus genes “econômicos”. Infelizmente, com a rápida globalização da sociedade ocidental, vivemos cada vez mais em um ambiente no qual o nosso “genoma econômico” não é adaptativo. Esse ambiente, apelidado de ambiente obesogênico, é caracterizado pelo acesso fácil à comida altamente saborosa e calórica, atividades profissionais sedentárias e atividades de lazer dominadas pela televisão e computadores (Hill & Peters, 1998).

I.5. Metodologias de estudo da obesidade comum

O estudo genético da obesidade comum baseia-se geralmente nas análises de variantes no DNA genômico, na maioria das vezes polimorfismos de uma única base, os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), situados dentro ou próximo de genes candidatos. Estudos genéticos de diferentes tipos, realizados em membros de uma mesma família ou em indivíduos não-aparentados e empregando diferentes métodos de análise (estudos de transmissão em famílias, estudos de associação em indivíduos obesos não-aparentados) são realizados para determinar se existe associação entre um alelo de determinado gene e caracteres relacionados à obesidade.

De forma geral, podemos dividir os métodos de estudo genético da obesidade em duas categorias: os estudos de ligação em famílias e os estudos de associação. Os estudos de ligação em famílias são realizados com indivíduos aparentados e consiste em buscar nas famílias com vários indivíduos obesos marcadores moleculares (SNPs ou microssatélites) em regiões cromossômicas que segreguem com o fenótipo, e dessa maneira mapear regiões ou genes candidatos. Já os estudos de associação consistem em verificar se existem diferenças de frequências alélicas estatisticamente significativas nos locos candidatos em indivíduos com e sem fenótipo de obesidade. Daremos mais atenção a esse tipo de estudo uma vez que é o objetivo principal desse trabalho.

I.5.1. Estudos de associação

Os estudos de associação são úteis para confirmar a suspeita do efeito de um determinado loco na manifestação do fenótipo. A associação pode existir por duas razões: por

causa do efeito direto e funcional da variante gênica sobre o fenótipo ou por causa do desequilíbrio de ligação entre a variante estudada e o gene responsável pelo fenótipo. Chama-se de desequilíbrio de ligação, a ocorrência, na população, de uma frequência maior de determinada combinação de alelos em dois locos gênicos do que a esperada pelo produto de suas frequências individuais. Neste caso, o desequilíbrio é ocasionado pela proximidade física dos genes em questão, ou seja, dois genes que estejam em desequilíbrio de ligação encontram-se suficientemente próximos para que entre eles exista baixa probabilidade de recombinação, o que permite que sejam herdados juntos, como um bloco.

Existem várias maneiras de testar a existência de associação entre um polimorfismo e uma determinada característica. O estudo clássico do tipo caso-controle, na sua forma mais simples, pode ser analisado como uma tabela de contingência 2 x 2, que compara as frequências alélicas e genotípicas entre indivíduos com e sem o fenótipo. Alguns fatores podem simular uma associação intrínseca, ou seja, ela pode ser devida a fatores alheios à associação propriamente dita, o que chamamos de associação espúria. Isso pode acontecer, por exemplo, no estudo de uma população estratificada que tenha sido equivocadamente analisada como sendo uniforme. Nesse caso, a associação pode resultar da estratificação e não da biologia do processo. Dessa forma, se pudermos separar os diversos segmentos, ou estratos, da população e a associação for espúria, verificaremos que não existirá associação dentro de cada segmento, apenas no total da população (Feitosa & Krieger, 2002)

A detecção de associações espúrias pode ser evitada pelo emprego de estudos de associação baseados em famílias. Devido à dificuldade de se coletar um número grande de famílias, a maioria dos estudos desse tipo tem poder limitado na detecção de efeitos moderados de genes sobre a doença. Assim, é importante empregar métodos estatísticos poderosos nos estudos de associação baseados em famílias.

O Teste de Desequilíbrio de Transmissão (TDT - *Transmission Disequilibrium Test*) proposto por Spielman e col. (1993) e suas várias extensões (Martin e col., 1997, 2000; Boehnke & Langefeld, 1998; Horvath & Laird, 1998; Spielman & Ewens, 1998) podem ser usados para detectar associações quando se tratam de traços dicotômicos, ou seja, apresentar o fenótipo da doença ou não. Para muitas doenças multifatoriais, os fenótipos quantitativos são mais informativos do que categorias diagnósticas nas análises genéticas. Recentemente, há um enorme interesse no desenvolvimento de métodos para estudar associação em relação a caracteres quantitativos e no uso desses métodos para o mapeamento de genes responsáveis por doenças de herança multifatorial.

Os testes de associação baseados em famílias que utilizam caracteres quantitativos podem ser divididos em duas amplas categorias. A primeira delas é baseada em modelos de regressão. Allison (1997) introduziu um teste para trios pais-filhos usando os genótipos dos pais para construir controles familiares em modelos de regressão linear. Allison (1999) desenvolveu um teste para irmandades usando um modelo de regressão linear com efeitos de laços familiares diversos. Fulker e col. (1999) propuseram um método de componentes de variância para a análise combinada de ligação e associação em pares de irmãos. O método

deses autores compreende a modelagem das médias alélicas para testar associação, com a modelagem simultânea da estrutura de covariância de pares de irmãos para testar ligação. Há também controle sobre as associações espúrias, que ocorrem devido à estratificação populacional, pela separação do efeito principal de um loco entre e intra os membros da família. Abecasis e col. (2000a, 2000b) generalizaram esse método aplicando-o a famílias nucleares e extensas genealogias, desenvolvendo um programa chamado Teste de Desequilíbrio de Transmissão Quantitativo (QTDT - *Quantitative Transmission-Disequilibrium Test*) que é hoje amplamente utilizado. Kistner e Weinberg (2004, 2005) propuseram um modelo de regressão logística múltipla por meio da modelagem do genótipo dos filhos, condicionando-os ao carácter quantitativo e aos genótipos dos pais.

A segunda categoria de testes de associação quantitativos compara mais diretamente as transmissões aos filhos com valores altos da característica, ou traço, em questão (por exemplo, valores altos de IMC) com as transmissões aos filhos com valores baixos do traço (Rabinowitz, 1997; Lunetta e col., 2000; Monks & Kaplan, 2000; Rabinowitz & Laird, 2000). Laird e col. (2000) propuseram o teste estatístico que avalia a covariância entre as transmissões de genótipos e valores do traço, desenvolvendo o programa FBAT (*Familial Based Association Test*), que se tornou muito popular. Monks & Kaplan (2000) propuseram o PDT (*Pedigree Disequilibrium Test*) que permite ausência de pais e testa associação na presença de ligação. Lange e col. (2002) estenderam o FBAT para incorporar correlações familiares fenotípicas ao modelo de componentes de variância de Fulker e col. (1999).

O QTDT é particularmente atraente porque ele acomoda genealogias arbitrárias (de modelos diversos), com ou sem genótipos parentais e permite a análise simultânea de ligação e de associação. O desempenho do QTDT reside fortemente na premissa de normalidade dos caracteres quantitativos em investigação. A não-normalidade pode diminuir o poder estatístico. O FBAT e o PDT, ao contrário, são métodos válidos para caracteres quantitativos com distribuições arbitrárias.

1.5.2. Estudos de ligação em famílias

O conhecimento dos polimorfismos genéticos e o desenvolvimento de ferramentas moleculares poderosas e automatizadas tornaram possível explorar de forma rápida e eficiente o genoma de famílias com indivíduos afetados por obesidade comum. O objetivo é uma exploração, a qual chamamos de varredura genômica, de todos os cromossomos nas famílias de indivíduos obesos na intenção de identificar marcadores polimórficos cujos alelos são compartilhados por indivíduos obesos. Essa abordagem é feita sem pré-conhecimento sobre a função dos genes e permite a identificação, nas regiões cromossômicas ligadas à obesidade, de genes de predisposição, tanto os já descritos como aqueles ainda não conhecidos. Muitas vezes é difícil encontrar exatamente qual é o gene de predisposição à obesidade quando as regiões genômicas mapeadas têm milhares de pares de base.

Essas abordagens têm sido aplicadas em diferentes tipos de estudos no mundo todo: famílias com obesidade grave ocorrendo na vida adulta ou na infância, famílias selecionadas

da população geral, grupos étnicos particulares (índios Pima, mexicanos, afro-americanos e Amish), entre outros. Estudos dessa natureza identificaram diversas regiões cromossômicas ligadas à obesidade. Ao menos 7 genes localizados nos cromossomos 2, 5, 6, 10, 11, 19 e 20 mostraram ter relação com a obesidade comum (Rankinen e col., 2006). Porém, um número pequeno de regiões foram confirmadas em diferentes populações. Como exemplos, podem-se mencionar a região 2p21, que parece desempenhar um papel na variabilidade dos níveis circulantes de leptina nos franceses, mexicanos e afro-americanos; uma região no cromossomo 10 está ligada à obesidade em franceses, alemães e nos Amish, entre outros. O mapa global das regiões cromossômicas ligadas à obesidade é muito mais complexo quando se consideram todos os resultados produzidos. Nenhum cromossomo, exceto o cromossomo Y, deixa de ter regiões ligadas à obesidade. Além disso, mais de 200 regiões cromossômicas foram encontradas ligadas a diferentes fenótipos relacionados a obesidade, tais como: massa de gordura, distribuição corporal de gordura, ocorrência de síndrome metabólica, gasto energético em repouso, aquisição de energia e macronutrientes, variação no peso corporal, níveis circulantes de leptina e insulina, etc. A maioria dos estudos, entretanto, foram baseados no IMC, que é um fenótipo mais fácil de ser medido e mais fácil de ser comparado entre diferentes estudos (Clément., 2006).

É difícil listar todas as regiões cromossômicas já encontradas ligadas à obesidade, particularmente porque foi produzido um grande número de resultados não-significativos ou resultados que não puderam ser replicados. O grande desafio é, portanto, identificar os genes que explicam o aumento do compartilhamento dos alelos polimórficos nas regiões de ligação. A confirmação da relação dos genes com a patogênese é outro desafio. Embora vários genes candidatos interessantes tenham sido identificados nessas regiões, ainda resta muito a se fazer a fim de se estabelecer o real papel desses genes na etiopatogenicidade da obesidade.

I.6. Genes candidatos

A escolha de um gene candidato para o estudo da obesidade é baseada em diversos critérios que incluem o papel fisiológico da proteína codificada por ele no mecanismo da obesidade, sua localização cromossômica em região previamente ligada à obesidade em humanos ou modelos animais (regiões conhecidas por QTLs, *Quantitative Trait Loci*), as consequências fenotípicas de sua manipulação genética em camundongos modelo (*knockouts* e *transgênicos*) e, eventualmente, o estudo das características funcionais *in vitro* das mutações ou variações gênicas. Essas últimas podem incluir o padrão de expressão de um transcrito gênico em tecidos-chave para o controle de peso, ou ainda a sua expressão modificada em resposta ao ambiente. Porém, raramente, todos esses critérios em conjunto são levados em consideração.

Embora existam resultados acumulados de cerca de 15 anos de análises genéticas em populações obesas, a abordagem “gene candidato” muitas vezes oferece resultados ambíguos

no que diz respeito à obesidade comum. As razões para a falta de réplica da maioria dos resultados de associação e ligação realizados em diferentes populações são numerosas e classicamente incluem a falta de poder estatístico para detectar um efeito modesto, falta de controle sobre a taxa de erro tipo I, estratificação populacional e consideração de resultados marginalmente significativos como positivos. Outras razões podem ainda incluir fatores não-genéticos, como por exemplo, fatores ambientais, que podem diferir de população para população e que sabidamente influenciam o desenvolvimento da obesidade e fatores genéticos étnicos (Clement, 2006).

Um grande número de genes e polimorfismos já foram testados. Estes genes estão relacionados a diferentes funções tais como o controle da ingestão alimentar, do gasto de energia, do metabolismo da glicose e de lipídios e mais recentemente o controle de processos inflamatórios. O mapa genético da obesidade, publicado anualmente sumariza todos os genes e variantes estudados (Rankinen e col., 2006).

Os bancos de dados de DNA e de dados clínicos que agrupam os resultados desses estudos genéticos listam um número enorme de genes e regiões cromossômicas relacionados à obesidade. Um exemplo desse tipo de banco de dados é o *Obesity Gene Map Database* (<http://obesitygene.pbrc.edu/>). A Tabela III sumariza como as informações presentes no mapa genético da obesidade evoluíram em cerca de dez anos, mostrando como a comunidade científica se empenha para desvendar as bases genéticas dessa doença. Segundo de sua última atualização, ocorrida em outubro de 2005, já foram identificados 176 casos de obesidade causados por mutações em um único gene, em onze genes diferentes. Ainda há 50 locos relacionados a síndromes de herança mendeliana que têm a obesidade em seu fenótipo. Existem 244 genes, que quando mutados ou expressos em camundongos transgênicos resultam em fenótipos que afetam o peso corporal e o montante de gordura armazenada. O número de estudos que indicaram a existência de associação entre polimorfismos de DNA em genes específicos aumentou consideravelmente nos últimos dois anos. Até 2005 tínhamos 426 achados de associação em 127 genes candidatos. Em resumo, até o final de 2005, mais de 600 genes, marcadores e regiões cromossômicas foram associadas ou encontram-se ligadas ao fenótipo da obesidade (Rankinen e col., 2006). A lista completa com os 127 genes já associados à obesidade pode ser encontrada no endereço eletrônico do *Obesity Gene Map Database* (<http://obesitygene.pbrc.edu/>).

Foram selecionados para esse estudo alguns polimorfismos presentes em genes candidatos, por se tratarem de polimorfismos em regiões gênicas funcionais ou por já terem sido estudados em diferentes populações, com resultados controversos. Estudamos polimorfismos presentes nos genes *LEP* (A19G), *LEPR* (Gln223Arg), *ADRB2* (Arg16Gly), *PPARG* (Pro12Ala), *PLIN* (6209T>C), *RETN* (-420C>G) e *INSIG2* (rs7566605). Nas próximas páginas segue uma revisão sobre da literatura sobre esses genes.

Tabela III: Evolução dos achados sobre a genética da obesidade no período de 1994 a 2005. (Modificado de Rankinen e col., 2006).

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Mutações em um único gene				2	6	6	6	6	6	6/7	10	11
Animais <i>knockouts</i> e transgênicos									38	55	166	244
Doenças mendelianas com localização cromossômica	8	12	13	16	16	20	24	25	33	41	49	50
QTLs em animais	7	9	24	55	67	98	115	165	168	183	221	408
QTLs em humanos provenientes de varredura genômica				3	8	14	21	33	68	139	204	317
Genes candidatos com achados positivos de associação	9	10	13	21	29	40	48	58	71	90	113	127

I.7. Polimorfismo A19G do gene *LEP*

O gene *LEP* localiza-se no cromossomo 7, na região 7q31.3 e codifica a leptina, uma proteína de 16kD que exerce papel primordial na regulação do peso corporal por inibir a ingestão de alimentos e estimular o gasto energético. A leptina tem várias outras funções, incluindo a regulação da hematopoiese, da angiogênese, da cura de feridas, de respostas imunes e inflamatórias. O gene *LEP* é o homólogo humano do gene *ob*, encontrado mutado no camundongo com fenótipo obeso (*ob/ob*). Ele tem cerca de 20kb e é composto por três exons separados por dois introns (Isse e col., 1995).

Em 1998, Karvonen e col. estudaram o gene *LEP* à procura de variantes. Para isso, analisaram as regiões promotora e codificadora de 200 obesos finlandeses (IMC > 27 Kg/m²). Uma substituição A144G no códon 48 e uma G328A no códon 110 foram encontradas em 2 indivíduos obesos, que possuíam baixos níveis de leptina circulante. Uma variante silenciosa rara (C538T) foi detectada 33 pares de base após o códon de parada e um polimorfismo comum (A19G) foi identificado no exon 1, não traduzido. Os autores não verificaram associação do polimorfismo A19G com obesidade, uma vez que as frequências alélicas foram similares no grupo dos indivíduos com peso normal e nos obesos finlandeses (Karvonen e col., 1998a). Após a descoberta do polimorfismo A19G, alguns estudos de associação dessa variante e de outros polimorfismos do gene *LEP*, com os fenótipos relacionados à obesidade

foram realizados com diferentes populações. A Tabela IV mostra o resumo dos estudos que apresentaram resultados de associação positivos e significativos.

I.8. Polimorfismo Gln223Arg do gene *LEPR*

A leptina, que é um hormônio produzido nos adipócitos e regula a massa de tecido adiposo por meio de efeitos no hipotálamo, age através de seu receptor *LEPR*, um receptor de um único domínio transmembrânico, pertencente à família de receptores citoquínicos. O gene que codifica o receptor da leptina, *LEPR*, localiza-se no cromossomo 1, na região 1p31.

Em 1997, Gotoda e col., investigando a região codificadora do gene *LEPR* de 22 obesos mórbidos ($35\text{Kg/m}^2 \leq \text{IMC} < 60,9\text{Kg/m}^2$), identificaram cinco variantes freqüentes, distribuídas ao longo da região codificadora, nos códons 109, 223, 345, 656 e 1019, uma mutação silenciosa rara no códon 986 e uma forma alternativa de *splicing* do transcrito. Nenhuma das cinco variantes comuns, incluindo as que resultam em troca de aminoácido, eram mutações de perda de função que causavam obesidade mórbida, pois homozigotos em relação a essas variantes foram encontrados entre indivíduos magros. A freqüência dos alelos e genótipos em cada polimorfismo foi semelhante no grupo de indivíduos britânicos obesos e magros, resultado que fez os autores sugerirem que mutações no gene *LEPR* não seriam uma causa freqüente de obesidade. Após a identificação desse e de outros polimorfismos no gene *LEPR*, foram realizados muitos estudos de associação dessas variantes aos fenótipos relacionados à obesidade. Os estudos que encontraram associações significativas estão resumidos na Tabela V.

I.9. Polimorfismo Arg16Gly do gene *ADRB2*

Os receptores β -adrenérgicos são alvos das catecolaminas endógenas, noradrenalina e adrenalina. Eles são expressos em diferentes tipos de células e exercem um papel primordial na regulação das funções cardíaca, pulmonar, vascular, endócrina e do sistema nervoso central. Três subtipos de receptores β -adrenérgicos já foram identificados farmacologicamente: β -1, β -2 e β -3 (Bylund e col., 1994). Os adrenoreceptores β -2 e β -3 estão envolvidos na estimulação da termogênese e na ativação da lipólise (Arner & Hoffstedt, 1999). Ambos tipos são receptores acoplados à proteína-G. As proteínas que se ligam a nucleotídeos guanina (proteínas-G) encontram-se na membrana das células e são transdutoras de sinal, conectando receptores efetores e então sinalizando cascatas de reações intracelulares. A variabilidade no gene que codifica o receptor adrenérgico β -2 (*ADRB2*) e os distúrbios na sua sinalização foram muito estudados com respeito à sua importância na susceptibilidade à obesidade (revisão em Leineweber e col., 2004).

Tabela IV: Estudos de associação de variantes presentes no gene *LEP* e fenótipos relacionados à obesidade realizados em diferentes populações.

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
Finlândia	168	diminuição do peso corporal	D7S2519 D7S649	em indivíduos obesos	Oksanen e col., 1997
Japão	84	peso corporal	microssatélite próximo a 3' do gene <i>LEP</i>		Shintani e col., 1996
França	395	níveis de leptina	A19G	em indivíduos obesos	Hager e col., 1998
França	117	níveis de leptina em resposta à dieta	C ^{-2549a} C ^{-1887T}	em indivíduos obesos	Mammes e col., 1998
EUA	103	IMC, peso corporal	D7S1875		Butler e col., 1998
EUA	211	IMC	A19G	em mulheres	Li e col., 1999
França	233	níveis de leptina	C ^{-2549A}	em mulheres obesas	LeStunff e col., 2000
Suécia	39	secreção de leptina	A ^{-2548G}	em mulheres	Hoffstedt e col., 2002
China	128 casos e 38 controles	mudanças no IMC e na gordura subcutânea abdominal	-2548A/G	em indivíduos esquizofrênicos sob tratamento com drogas anti-psicóticas	Zhang e col, 2003
EUA	738	IMC	H1328084 H1328083 H1328082 H1328081 H1328080	em homens	Jiang e col., 2004
Espanha	73	mudanças no IMC durante 9 meses	-2548A/G	em indivíduos esquizofrênicos sob tratamento com drogas anti-psicóticas	Templeman e col., 2005
EUA	13.405	peso corporal, IMC, concentrações plasmáticas de leptina	A19G	em mulheres afro-americanas e caucasianas	Hart-Sailors e col., 2007

(fonte: <http://obesitygene.pbrcc.edu/>)

Tabela V: Estudos de associação de variantes presentes no gene *LEPR* e fenótipos relacionados à obesidade realizados em diferentes populações.

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
EUA (Índios Pima)	20	porcentagem de gordura corporal	Lys109Arg Gln223Arg		Thompson e col., 1997
Canadá	308	massa de gordura livre, massa de gordura, IMC, soma de pregas	Gln223Arg		Chagnon e col., 1999
Canadá (caucasianos)	502	IMC, massa de gordura	Lys109Arg Gln223Arg	em homens	Chagnon e col., 2000
Suécia	267	IMC, circunferência abdominal sagital	Lys109Arg Gln223Arg	em homens	Rosmond e col., 2000a
EUA	12 pares de gêmeos monozi-góticos	mudanças no metabolismo e composição corporal em resposta à super-alimentação	Gln223Arg	em homens	Ukkola e col., 2000b
Bélgica	62	gordura abdominal total, gordura abdominal subcutânea	Lys109Arg Gln223Arg Lys656Asn	mulheres com sobrepeso e obesas	Wauters e col., 2001
Grécia	118	IMC	Gln223Arg		Yiannakouris e col., 2001
França	566	IMC, massa de gordura, perda de peso	T + 70-->C Asp96Asp Ser343 Ser	em mulheres	Mammes e col., 2001
Inglaterra	220	níveis de leptina, IMC, massa de gordura	Gln223Arg	em mulheres com idade pós-menopausa	Quinton e col., 2001
Austrália	335	IMC, peso corporal, massa de gordura	Pro1019Pro	em mulheres	de Silva e col., 2001
Brasil	336	IMC	Gln223Arg		Mattevi e col., 2002
EUA (Índios Pima)	268	gasto de energia em 24 horas, tamanho dos adipócitos subcutâneos abdominais	Gln223Arg		Stefan e col., 2002
EUA	405	massa de gordura, massa magra	Lys656Asn		Liu e col., 2004
EUA	600	IMC	Gln223Arg	em mulheres expostas à radiação na infância	Ross e col., 2004
México	103	porcentagem de gordura corporal	Gln223Arg	em adolescentes	Guizar-Mendoza e col., 2005
Finlândia	507	risco para diabetes tipo II, peso corporal	Gln223Arg Lys109Arg		Salopuro e col., 2005
Finlândia	770	mudança no IMC e circunferência da cintura durante três anos	inserção/ deleção de pentanucleotídeo na região 3' não-traduzida		Zacharova e col., 2005
Espanha	909	IMC	Gln223Arg		Portolés e col., 2006
Brasil	200	IMC	Gln223Arg		Duarte e col., 2006

(fonte: <http://obesitygene.pbrcc.edu/>)

Liggett e col. (1995) descreveram três polimorfismos no gene *ADRB2* que foram estudados em pacientes asmáticos: uma variante rara, Thr164Ile e duas variantes comuns, Arg16Gly e Gln27Glu. Além desses polimorfismos, outros 16 já foram descritos (revisão em Leineweber e col., 2004) embora a maioria dos estudos de associação com os fenótipos relacionados à obesidade tenham utilizado esses três polimorfismos. A Tabela VI mostra um resumo dos estudos que avaliaram a associação de fenótipos relativos à obesidade com polimorfismos no gene *ADRB2* em diversas populações e encontraram associações significativas.

I.10. Polimorfismo Pro12Ala do gene *PPARG*

Os Receptores Ativados por Proliferador de Peroxissomo (PPARs) são membros da subfamília de receptores hormonais nucleares de fatores de transcrição. Existem três subtipos de PPARs: PPAR-alfa, PPAR-delta e PPAR-gama (Braissant e col., 1996). PPAR-gama (PPARG) exerce um papel importante na diferenciação dos adipócitos e na expressão gênica (Spiegelman, 1998). Os PPARs formam heterodímeros com Receptores Retinóides-X (RXRs) e esses heterodímeros regulam a transcrição de vários genes. Acredita-se que o receptor PPAR-gama (PPARG) esteja envolvido na diferenciação dos adipócitos e regule o metabolismo de lipídios e a sensibilidade à insulina (Latruffe e col., 1997). O uso diferencial de promotores e o *splicing* alternativo que ocorre no gene *PPARG* humano resultam em duas isoformas diferentes: PPARG-1 e PPARG-2 (Fajas e col., 1997; Zhu e col., 1995). A isoforma PPARG-1 difere da PPARG-2 por conter 28 aminoácidos adicionais em sua porção amino-terminal, codificados pelo exon B (Zhu e col., 1995). A isoforma PPARG-1 é expressa em diversos tecidos incluindo tecido adiposo, músculo esquelético, coração e fígado, enquanto que a isoforma PPARG-2 é quase que exclusivamente expressa no tecido adiposo (Braissant e col., 1996; Vidal-Puig e col., 1996). O receptor PPARG é ativado por ligantes naturais (ácidos graxos e prostanóides) e por ligantes sintéticos, tais como drogas anti-diabetes, as tiazolidinedionas (Elbrecht e col., 1996). Ao serem ativados, eles estimulam a diferenciação dos adipócitos e o aumento da sensibilidade à insulina *in vitro* (Berger e col., 1996a; Berger e col., 1996b; Sandouk e col., 1993). Em estudos de super-expressão realizados em cultura de fibroblastos foi mostrado que PPARG é o receptor predominante na regulação da adipogênese (Brun e col., 1996). Camundongos que possuem um dos alelos do gene *Pparg* inativos e que comem uma dieta com alta quantidade de gordura têm maior sensibilidade à insulina em comparação aos camundongos selvagens (Miles e col., 2000). Estudos com humanos mostraram que as tiazolidinedionas diminuem a resistência à insulina e diminuem a hipertrigliceridemia por meio de sua interação com os receptores PPARG (Iwamoto e col., 1996; Antonucci e col., 1997).

Tabela VI: Estudos de associação de variantes presentes no gene *ADRB2* e fenótipos relacionados à obesidade realizados em diferentes populações.

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
Suécia	140	IMC, massa de gordura, volume de gordura nas células	Gln27Glu	em mulheres	Large e col., 1997
Japão	508	IMC	Arg16Gly Gln27Glu	em mulheres	Ishiyama-Shigemoto e col., 1999
Japão	277	IMC	Gln27Glu	em homens	Mori e col., 1999
Japão	574	IMC	-47T>C -20T>C		Yamada e col., 1999
França	826	IMC, obesidade, RCQ, circunferência da cintura e do quadril	Arg16Gly Gln27Glu	em homens	Meirhaeghe e col., 2000b
Canadá	224	IMC	Arg16Gly Gln27Glu	em homens	Ukkola e col., 2000a
Suécia	180	IMC	Arg16Gly Gln27Glu	em homens	Ehrenborg e col., 2000
Suécia	284	IMC, RCQ, circunferência da cintura, níveis de testosterona, leptina, insulina, triglicérides, colesterol, pressão arterial	Arg16Gly Gln27Glu	em homens	Rosmond e col., 2000b
Suécia	236	lipólise	Thr164Ile Arg16Gly Gln27Glu		Hoffstedt e col., 2001
EUA (caucasóides e afro-americanos)	494	aumento do IMC, pregas subescapular e tricipital	Arg16Gly	em homens	Ellsworth e col., 2002
Alemanha	286	aumento de peso	Arg16Gly Gln27Glu		van Rossum e col., 2002
EUA	24	níveis de leptina, aumento de peso, soma das pregas	Gln27Glu		Ukkola e col., 2001
Inglaterra	366	IMC	Arg16Gly	em mulheres	Meirhaeghe e col., 2001
EUA	63	IMC, massa gorda	Gln27Glu	em mulheres com idade pós-menopausa	Moore e col., 2001a
Brasil	1576	IMC	Arg16Gly Gln27Glu		Pereira e col., 2003
Espanha	239	RCQ	Gln27Glu	em homens	Corbalan e col., 2002
Canadá	247	mudanças no IMC, porcentagem de gordura, massa gorda, soma das pregas	Arg16Gly Gln27Glu		Garenc e col., 2003
Brasil (caucasóides)	335	IMC, circunferência da cintura	Arg16Gly	em homens	Mattevi e col., 2006

fonte: (<http://obesitygene.pbrc.edu/>)

Somando-se todos esses dados, sugeriu-se que o gene *PPARG* é um candidato com potencial para ser um gene de predisposição à síndrome de resistência à insulina, que inclui o tipo central de obesidade, altos níveis de insulina em jejum, altos níveis totais de triglicérides e baixos níveis plasmáticos de HDL-colesterol e lipoproteína de alta densidade. A análise da seqüência do gene *PPARG* identificou algumas variações importantes que deram pistas a respeito da função desse gene no metabolismo dos mamíferos e sua relação com doenças crônicas. Quatro substituições de aminoácidos dentro do gene *PPARG* humano já foram descritas. Ristow e col. (1998) identificaram a mutação não-sinônima, Pro115Gln, no gene *PPARG*, uma mutação rara, de ganho de função, em quatro pacientes com obesidade mórbida. Em 1999, Barroso e col. identificaram as mutações Val290Met e Pro467Leu, que causam perda de função, em três indivíduos com grave resistência à insulina, mas não obesos. Em 1997, Yen e col. encontraram duas substituições de base, consideradas polimorfismos. A primeira delas, uma mutação sinônima, corresponde à troca de uma citosina por uma timina no nucleotídeo 1431 (CAC^{His} → CAT^{His}). A segunda, que foi encontrada em diversas populações, é uma mutação não-sinônima no códon 12 da seqüência de *PPARG-2* (CCG^{Pro} → GCG^{Ala}), que corresponde à troca de uma citosina por uma guanina no nucleotídeo 34 o que leva à troca do aminoácido prolina por alanina na proteína. Uma vez que o tecido adiposo é o alvo mais importante de expressão da isoforma *PPARG-2* e parece existir diferença na sensibilidade à insulina quando uma ou outra isoforma atua (*PPARG-1* e *PPARG-2*), os autores propuseram que essa substituição de aminoácido não-conservativa deveria ter conseqüências importantes em relação à predisposição à obesidade, à resistência à insulina e ao diabetes tipo II (Yen e col., 1997).

Desde a descoberta da possível importância do gene *PPARG* na diferenciação dos adipócitos, muitos estudos de associação dos polimorfismos presentes nesse gene, incluindo o Pro12Ala, a fenótipos relacionados à obesidade e ao diabetes foram realizados em diferentes populações ao redor do mundo. A Tabela VII resume os estudos que obtiveram resultados de associação significativos.

I.11. Polimorfismo 6209T>C do gene *PLIN*

A perilipina é uma fosfoproteína que reveste as gotas de lipídios intracelulares presentes nos adipócitos (Greenberg e col., 1991; Greenberg e col., 1993; Londos e col., 1995). Recentes estudos de cultura celular e modelos animais têm mostrado que a perilipina é essencial para a deposição e mobilização de triacilgliceróis do tecido adiposo (Tansey e col., 2001; Tansey e col., 2003; Mottagui-Tabar e col., 2003).

O gene *PLIN* humano localiza-se em 15q26.1 (Nishiu e col., 1998), vizinho a locos de susceptibilidade à obesidade, diabetes e hipertrigliceridemia (Mori e col., 2002; Duggirala e col., 2000), previamente descritos. Por meio de *splicing* alternativo o gene *PLIN* produz quatro diferentes produtos, perilipina A, B, C e D (Lu e col., 2001).

Tabela VII: Estudos de associação de variantes presentes no gene *PPARG* e fenótipos relacionados à obesidade realizados em diferentes populações.

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
França (obesos)	820	níveis de leptina	C161T	em obesos	Meirhaeghe e col., 1998
Finlândia	333	IMC	Pro12Ala	em indivíduos de meia-idade e idosos	Deeb e col., 1998
Alemanha (homens obesos e magros)	1621	mudanças no IMC	Pro12Ala	em homens	Ek e col., 1999
Alemanha	121	IMC	Pro115Gln		Ristow e col., 1998
Finlândia	141	IMC, peso corporal, massa gorda, circunf. da cintura, circunf. do quadril, massa magra	Pro12Ala CAC478CAT	em mulheres	Valve e col., 1999
Itália	375	obesidade grave com início precoce	Pro12Ala		Vaccaro e col., 2000
EUA (mexicanos)	921	níveis de leptina, IMC, circunf. da cintura	Pro12Ala		Cole e col., 2000
França	838	IMC, peso corporal, altura, circunf. da cintura	Pro12Ala		Meirhaeghe e col., 2000a
EUA	70	aumento de peso após perda	Pro12Ala	em mulheres com idade pós-menopausa	Nicklas e col., 2001
EUA	619	IMC	Pro12Ala	em indivíduos familiares de diabéticos	Hasstedt e col., 2001
Finlândia	119	ganho de peso em 10 anos	Pro12Ala		Lindi e col., 2001
Finlândia	225	perda de peso em 3 anos	Pro12Ala	indivíduos com pouca tolerância à glicose	Lindi e col., 2002
Espanha	464	IMC	Pro12Ala		Gonzalez-Sanchez e col., 2002
Finlândia	973	IMC	Pro12Ala	em indivíduos idosos	Deeb e col., 1998
Suécia	268	IMC	Pro12Ala	em homens	Rosmond e col., 2003
Escócia	422	IMC	Pro12Ala C1431T		Doney e col., 2002
Canadá	228	IMC	Pro12Ala Pro115Gln	em obesos	Koumanis e col., 2002
Canadá	720	IMC, massa gorda, circunferência da cintura, gordura abdominal visceral, gordura abdominal subcutânea	Pro12Ala		Robitaille e col., 2003

Tabela VII: Continuação

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
EUA (índios Pima)	183	oxidação lipídica e balanço lipídico em 24hs	Pro12Ala		Muller e col., 2003
EUA (afro-americanos)	451	IMC, circunferência da cintura, RCQ	Pro12Ala	em indivíduos com sobrepeso	Kao e col., 2003
Itália	414	IMC	Pro12Ala	em homens	Barbieri e col., 2004
Nova Zelândia	41	IMC, massa gorda	Pro12Ala	gêmeos em idade pré-puberdade	Jefferiese col., 2004
Itália	100	IMC	Pro12Ala	mulheres com síndrome do ovário policístico	Orio e col., 2003
Finlândia	311	ganho de peso desde o nascimento até a idade adulta	Pro12Ala		Pihlajamaki e col., 2004
Singapura (chineses, malásios, indianos)	3080	IMC	Pro12Ala C1431T		Tai e col., 2004
Coréia	1051	IMC, RCQ, massa de gordura, porcentagem de gordura corporal	Pro12Ala	em mulheres com sobrepeso	Kim e col., 2004
Japão	140	IMC	C/T no exon 6	em diabéticos	Maeda e col., 2004
Indonésia (javaneses)	337 diabéticos 203 normais	IMC	Pro12Ala		Danawati e col., 2005
EUA (caucasóides)	1954	variação do IMC e da circunferência da cintura durante 15 anos	Pro12Ala		Fornage e col., 2005
EUA (afro-descendentes)	1844	variação do IMC durante 15 anos	Pro12Ala		Fornage e col., 2005
Alemanha	29	perda de peso durante treinamento aeróbico	Pro12Ala	em filhos saudáveis de pacientes diabéticos	Ostergard e col., 2005

fonte: (<http://obesitygene.pbrc.edu/>)

Perilipina A é a isoforma mais comum no tecido adiposo (Greenberg e col., 1993; Mottagui-Tabar e col., 2003; Wang e col., 2003). A perilipina é um alvo para a proteína quinase-A (PKA). Quando não-fosforilada, supõe-se que a perilipina aja como uma barreira para a lipase hormônio-sensível (HSL), indiretamente impedindo a lipólise dos triacilgliceróis nas gotículas de gordura nos adipócitos (Tansey e col., 2001; Tansey e col., 2003; Martinez-Botas e col., 2000; Brasaemle e col., 2000; Souza e col., 2002; Souza e col., 1998, Mottagui-Tabar e

col., 2003). Entretanto, após sua fosforilação, a perilipina pode facilitar a ação da HSL, mediando a lipólise nas gotas de gordura nos adipócitos (Tansey e col., 2003; Souza e col., 2002; Sztalryd e col., 2003; Zhang e col., 2003). A perilipina A age aumentando a reserva intracelular de triacilgliceróis por meio da diminuição da hidrólise dessas moléculas e ainda tem um papel adicional, que é controlar a liberação de triacilgliceróis, quando necessário. Defeitos na regulação desse processo devem contribuir para a obesidade e para alterações no metabolismo de lipídios.

Estudos funcionais em cultura de células do camundongo *Plin^{-/-}* mostraram aumento da lipólise basal. Além disso, a ausência da perilipina resulta em fraqueza, resistência à obesidade induzida por dieta e reversão da obesidade em camundongos obesos (*lepr db/db*) (Tansey e col., 2001; Martinez-Botas e col., 2000). Esses estudos sugerem que o gene *PLIN* também deve ter papel na etiologia da obesidade em humanos.

Foi sugerido que variações na seqüência do gene *PLIN* poderiam estar associadas à variabilidade em medidas antropométricas e concentração de lipídios nos plasma, ambos envolvidos com risco de síndrome metabólica. Com essa idéia, Qi e col., em 2004, estudaram indivíduos caucasóides espanhóis à procura de variantes no gene *PLIN* e evidências de associação dessas variantes com fenótipos relacionados à obesidade. Os autores encontram diversos polimorfismos (*PLIN1*: 6209T>C; *PLIN4*: 11482G>A; *PLIN5*: 13041A>G e *PLIN6*: 14995A>T) e verificaram que, em mulheres, os polimorfismos *PLIN1* e *PLIN4* estavam em desequilíbrio de ligação e significativamente associados com um menor IMC. As portadoras do alelo 2 (6209C) do polimorfismo *PLIN1* pesavam significativamente menos que as homozigotas em relação ao alelo selvagem 1 (6209T). O mesmo foi encontrado para as portadoras do alelo 11482A do polimorfismo *PLIN4*. Além disso, a variante *PLIN4* foi associada à razão cintura/quadril, taxa de glicose plasmática e concentração de triacilglicerol significativamente menor. Porém, nenhuma dessas associações estatisticamente significativas foi encontrada entre os homens (Qi e col., 2004a). Como a descoberta do possível papel da perilipina na etiologia da obesidade é recente, existem ainda poucos estudos de associação de polimorfismos no gene *PLIN* a fenótipos relacionados a obesidade. A Tabela VIII mostra o resumo desses estudos.

I.12. Polimorfismo -420C>G do gene *RETN*

O gene *RETN* está localizado no cromossomo 19, na região 19p13.2, é composto por 4 exons e aproximadamente 1750pb. Ele produz uma proteína, chamada resistina, de 108 aminoácidos e 12,5 kDa. A resistina humana é composta por um peptídeo sinal hidrofóbico, que é clivado antes de sua secreção. A resistina é produzida por adipócitos e circula na corrente sanguínea humana como uma proteína dimérica constituída por duas cadeias polipeptídicas de 92 aminoácidos ligadas por pontes dissulfeto no resíduo Cys-26 (Aruna e col., 2003).

Tabela VIII: Estudos de associação de variantes presentes no gene *PLIN* e fenótipos relacionados à obesidade realizados em diferentes populações.

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
Suécia	117	lipólise nos adipócitos	rs891460 A/G		Mottagui-Tabar e col., 2003
Espanha	1538	IMC	6209T>C 11482G>A	em mulheres	Qi e col., 2004a
EUA	734	porcentagem de gordura corporal, circunferência da cintura	13041A>G 14995A>T	em mulheres	Qi e col., 2004b
EUA	150	peso corporal, resistência à perda de peso em reposta à dieta	11482G>A	em obesos	Corella e col, 2005
EUA (grupos étnicos de Singapura: malásios, indianos e chineses)	4.131	IMC	6209C>T 10171A>T 11482G>A 13041A>G 14995A>T		Qi e col., 2005
Coréia	177	ácidos-graxos livres circulantes, distribuição de gordura abdominal em resposta à perda de peso	10076C>G 10171A>T 11482G>A 14995A>T	em obesos	Jang e col., 2006

fonte: (<http://obesitygene.pbrc.edu/>)

Holcomb e col. (2000) foram os primeiros a descrever em camundongos a família de genes a qual a resistina pertence e sua distribuição tecido-específica. Eles identificaram uma proteína super-expressa no pulmão dos camundongos asmáticos. Essa proteína, que foi chamada de FIZZ1 (encontrada na zona inflamatória 1), é também conhecida por molécula semelhante a resistina α (RELM α). Uma das outras duas moléculas homólogas, FIZZ2, também chamada de RELM β , foi localizada no epitélio proliferativo, na base da cripta, no trato intersticial. Posteriormente, Steppan e col. (2001a) evidenciaram que FIZZ2/RELM β também estava presente no epitélio pulmonar de divisão rápida e encontrava-se em maior quantidade em tumores intestinais quando comparados com o epitélio controle. A molécula RELM β também é produzida no tecido adiposo. A terceira molécula homóloga, FIZZ3, é conhecida como resistina e é idêntica ao homólogo secretado pelos adipócitos humanos e de ratos (Rajala e col. 2002).

Subseqüentemente, Steppan e col. (2001b) mostraram que os níveis de resistina estavam aumentados em camundongos com diabetes tipo II, sugerindo, portanto, que essa proteína estaria potencialmente ligando a obesidade à resistência à insulina. Esse grupo mostrou que a administração de resistina recombinante a camundongos reduzia a tomada de

glicose pelas células e a ação da insulina. Por outro lado, a neutralização da resistina com anticorpos anti-resistina aumentava a ação da insulina.

Sabe-se muito pouco a respeito da potencial função da resistina ou de seus homólogos (Flier, 2001). Drogas tiazolidinedionas reduzem a resistência à insulina e são usadas no tratamento do diabetes tipo II. Essas drogas reprimem a produção de resistina pelos adipócitos e seu efeito anti-diabético pode, pelo menos em parte, estar relacionado a esse mecanismo. Estudos demonstraram que os diferentes tipos de obesidade - a obesidade induzida por dieta rica em gordura, a causada por mutação do gene da leptina (camundongos *ob/ob*) ou ainda a causada por mutação no gene do receptor da leptina (camundongos *db/db*) - estão associadas com concentrações aumentadas de resistina circulante. Em camundongos, a resistina provoca o aumento das concentrações de glicose sanguínea e de insulina e prejudica a resposta hipoglicêmica à infusão de insulina. Além disso, anticorpos anti-resistina diminuem a glicose sanguínea e aumentam a sensibilidade à insulina em camundongos obesos (Ukkola, 2002). Em cultura de adipócitos 3T3-L1 a resistina inibe a tomada de glicose pelas células quando estas são estimuladas por insulina. Por outro lado, esse efeito é reprimido por anticorpos anti-resistina. Esses dados em conjunto sugerem que a resistina induz a resistência à insulina e que a hiperresistinemia contribui para a diminuição da sensibilidade à insulina em camundongos obesos (Shuldiner e col., 2001). O papel supressor das tiazolidinedionas na secreção de resistina, que foi evidenciado em vários estudos, pode contribuir para os efeitos sobre a sensibilidade à insulina dessa classe de drogas. Entretanto, dados de outros estudos não confirmam esses resultados, tendo sido observados níveis reduzidos de RNAm de resistina no tecido adiposo de camundongos modelo obesos (Way e col., 2001; Moore e col., 2001; Le Lay e col., 2001).

Dada a homologia incompleta entre a resistina de camundongos e dos humanos e a ausência nesses últimos de uma das três isoformas da resistina presente em murinos, acredita-se que a resistina em humanos deva ter um papel fisiológico diferente daquele encontrado em camundongos. Estudos sobre a variação genética do gene da resistina, incluindo SNPs, são muito controvertidos em relação ao papel da resistina na obesidade e na sensibilidade à insulina. Além disso, a expressão do RNAm de resistina é muito baixa em adipócitos humanos isolados, não apresentando uma correlação consistente com a resistência à insulina ou a obesidade (Hotamisligil, 2003; Savage e col., 2001). Assim, o papel da resistina e dos outros membros da família FIZZ/RELM em humanos ainda precisa ser estabelecido. Essas proteínas devem estar envolvidas na regulação da proliferação e diferenciação celular. Dada a produção de FIZZ1/RELM α em regiões inflamatórias e de resistina em células inflamatórias, outra possibilidade é seu envolvimento em reações inflamatórias crônicas associadas à obesidade (Gomez-Ambrosi & Fruhbeck, 2001).

Ainda sobre o papel da resistina na obesidade e na resistência à insulina em humanos, estudos mostraram que existe mais resistina no soro de indivíduos obesos do que no de indivíduos magros, com correlação positiva entre a resistina e o IMC. O IMC é um preditor significativo da resistência à insulina, mas a resistina ajustada pelo IMC não é. Esses dados

demonstram que a proteína resistina está presente no tecido adiposo e no sangue humanos e que existe significativamente mais resistina no soro de indivíduos obesos. Entretanto, o nível de resistina no soro não permite prever a resistência à insulina em humanos (Youn e col., 2004; Rea & Donnelly, 2004)

Devido ao possível papel da resistina como um fator de ligação entre os fenótipos de obesidade e diabetes do tipo II, muitos estudos procuraram por variações na seqüência do gene *RETN*, tentando associá-las aos fenótipos relacionados a essas duas doenças. Em 2002, Engert e col. seqüenciaram o gene *RETN* de 45 indivíduos, representando uma amostra de diabéticos, obesos e indivíduos controle. Os autores encontraram nove variações, embora nenhuma presente na região codificadora do gene: uma substituição na região 3' não traduzida (c.62*G>A), dois SPNs no intron 2 (IVS2+39C>T e IVS2 + 181G>A), dois SNPs no intron 3 (IVS3+30C> e IVS3-16C>G) e quatro SNPs na região 5' (g.-537A>C, g.-420C>G, g.-638G>A e g.-358G>A). A posterior investigação da associação desses SNPs com os fenótipos de diabetes tipo II e obesidade revelou que as duas variantes na região 5' não-traduzida (g.-537A>C e g.-420C>G) estavam em desequilíbrio de ligação e associadas ao aumento do IMC.

Muitos estudos de associação dos fenótipos de obesidade e diabetes tipo II foram realizados com diferentes populações. A Tabela IX resume alguns estudos que encontraram associações positivas entre polimorfismos presentes no gene *RETN* e fenótipos relacionados à obesidade.

I.13. Polimorfismo rs7566605 do gene *INSIG2*

O gene *INSIG2* está localizado no cromossomo 2, em 2q21.2. Ele produz uma proteína de 225 aminoácidos, composta por 6 domínios transmembrânicos (Yabe e col., 2002). O movimento de entrada e saída de proteínas que se ligam a elementos regulatórios dos esteróides (SREBP - *sterol regulatory element-binding proteins*) do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi é considerado o evento mais importante na homeostase dos lipídios nas células animais. As proteínas SREBPs ativam genes que codificam enzimas necessárias à síntese de colesterol, ácidos graxos, triglicérides e fosfolipídios. Na presença de esteróides, o gene *INSIG2* (insulin-induced gene 2) indiretamente inibe a síntese de lipídeos por meio do bloqueio da ativação proteolítica de SREBPs por SCAP (*sterol cleavage-activating protein*), fazendo com que as SREBPs permaneçam no retículo endoplasmático (Yabe e col., 2002).

Yabe e col. (2003) mostraram que a isoforma específica do fígado, *Insig2a*, era expressa em camundongos em jejum e que essa expressão era regulada negativamente pela insulina. A expressão de RNAm de *Insig2* aumentava quando os camundongos permaneciam em jejum e sua expressão diminuía quando eles eram realimentados. Em ratos, a expressão do transcrito também aumentava após a indução de diabetes por estreptozotocina e diminuía quando se administrava insulina. Yabe e col. (2003) postularam a hipótese de que a diminuição

da expressão de *Insig2*, mediada pela insulina, permite o processamento de *Srebp1c*, deixando que a insulina estimule a síntese de ácidos graxos.

Para se determinar se as ações anti-lipogênicas da proteína *Insig2* demonstradas em cultura de pré-adipócitos também ocorriam *in vivo*, Takaishi e col. (2004) infectaram ratos modelos diabéticos e gordos (ratos Zucker *fa/fa*) com adenovírus recombinante contendo cDNA de *Insig2*. Observou-se que, nesses camundongos, a superexpressão de *Insig2* no fígado provocou diminuição dos níveis plasmáticos de triglicérides, o que comprovou *in vivo* a ação anti-lipogênica do produto desse gene.

Recentemente, Herbert e col. (2006) realizaram um estudo em que foram genotipados 86.604 SNPs distribuídos por todo o genoma. Apenas um SNP, rs7566605, situado a 10kb do gene *INSIG2* mostrou uma forte evidência de associação com o IMC em múltiplas amostras. O genótipo CC mostrou-se associado com obesidade em três diferentes amostras baseadas em famílias e em três amostras de indivíduos não aparentados, compreendendo indivíduos americanos com origem no leste-europeu, afro-americanos e crianças da população geral. A metanálise de todas as amostras de estudos caso-controle mostrou que o genótipo CC estava significativamente associado com obesidade sob o modelo recessivo, com *Odds Ratio* de 1,22 ($p=0,008$). Os indivíduos homocigotos com o alelo C (aproximadamente 10% da população) apresentavam IMC aproximadamente 1Kg/m^2 maior que os portadores do alelo G. O resultado obtido tanto das amostras de ancestralidade leste-européia como de afro-americanos sugeriram que o alelo de risco antecede a migração para fora da África (*Out of Africa*), ou seja, se originou há mais de 100.000 anos, antes dos homens modernos deixarem a África.

Após a publicação desse estudo, diversos grupos tentaram reproduzir os achados de Herbert e col (2006) utilizando outras populações. A Tabela X resume os estudos realizados até o momento que buscaram associar o polimorfismo rs7566605, localizado próximo ao gene *INSIG2*, à obesidade.

Tabela IX: Estudos de associação de variantes presentes no gene *RETN* e fenótipos relacionados à obesidade realizados em diferentes populações.

Pais (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
Canadá	411	IMC, obesidade	-537A>C 420C>G		Engert e col., 2002
Finlândia	777	peso, circunferência da cintura, IMC	-420C>G, +156C>T, +298G>A, +1084G		Conneely e col., 2004
Brasil (descendentes de europeus)	814	IMC, circunferência da cintura	-420 C>G	em mulheres	Mattevi e col., 2004
Canadá	725	fenótipos relacionados ao acúmulo de gordura e metabolismo da glicose	-420 C>G	em homens	Bouchard e col., 2004

Tabela IX: Continuação.

País (população)	N	Fenótipos associados	Polimorfismos associados aos fenótipos	Particularidades da associação encontrada	Referência
Finlândia	12	mudanças na gordura abdominal visceral induzida por superalimentação	IVS2+181G>A, IVS2+39C>T	em 12 pares de gêmeos monozigóticos	Ukkola e col., 2004
Grécia	320	IMC		em mulheres com síndrome do ovário policístico	Xita e col., 2004

fonte: (<http://obesitygene.pbrcc.edu/>)

Tabela X: Estudos que analisaram a associação do polimorfismo rs759906 próximo ao gene *INSIG2* a fenótipos relacionados à obesidade.

País (população)	Resultado	Fenótipos testados	Tipo de estudo	Particularidades da associação encontrada	Referência
EUA (caucasianos de origem no leste europeu e afro-americanos)	associação	IMC	baseado em famílias; populacional		Herbert e col., 2006
Alemanha	associação	IMC	populacional	em indivíduos com sobrepeso	Roskopf e col., 2006
Inglaterra	ausência de associação	IMC, RCQ, circunferência da cintura e do quadril, níveis plasmáticos de leptina	baseado em famílias		Hall e col., 2006
Inglaterra	ausência de associação e tendência oposta	IMC	populacional	Portadores do alelo G com maior IMC	Loss e col., 2006
França	ausência de associação	IMC	baseado em famílias; populacional; caso-controle		Dina e col., 2006
Indivíduos de oito diferentes populações	associação	IMC	baseado em famílias; populacional; caso-controle		Lyon e col., 2007
Itália	ausência de associação	IMC	baseado em famílias		Ciullo e col., 2007
Indivíduos caucasóides, afro-caribenhos e indianos)	ausência de associação	níveis de triglicérides, IMC	populacional	Homens diabéticos e saudáveis	Smith e col., 2007
Índia	ausência de associação	IMC	populacional caso-controle	portadores do alelo CC com menor IMC	Kumar e col., 2007

I.14. O modelo dos remanescentes de quilombo e sua contribuição ao estudo da obesidade

Os remanescentes de quilombos caracterizam-se como populações de ancestralidade majoritariamente africana e que vivem atualmente em áreas outrora ocupadas por escravos negros fugidos e/ou alforriados. Historicamente, quilombos eram “comunidades formada pelos negros escravos, que fugiram do trabalho forçado e resistiram à recaptura por parte das forças escravocratas” (Carvalho e col., 1995). O conceito de remanescente de quilombo aceito atualmente refere-se a “toda comunidade negra rural que agrupe descendentes de escravos vivendo da cultura de subsistência e onde as manifestações culturais têm forte vínculo com o passado” (Oliveira Jr e col., 2000), incluindo não somente negros fugidos, mas também os libertos ou abandonados por seus senhores.

O Vale do Ribeira, ao sul do estado de São Paulo, é uma região que agrupa diversas populações remanescentes de quilombo (Figura 7). O Vale do Ribeira ocupa cerca de 10% do território paulista, abrigando 10 municípios: Eldorado, Jacupiranga, Pariquera-Açu, Registro, Sete Barras, Iguape, Cananéia, Iporanga, Apiaí e Ribeira. O relevo é predominantemente montanhoso, o clima é quente e úmido e seu território abrange grandes extensões de Mata Atlântica

De acordo com informações da Fundação Palmares e do Instituto Sócio-Ambiental, podem existir até 52 povoados remanescentes de quilombos no Vale do Ribeira. Foram identificadas até o momento nessa região 25 comunidades: Ivaporunduva, Maria Rosa, Pedro Cubas, Pilões, São Pedro, Cafundó, Caçandoca, Jaó, Sapatu, Nhunguara, André Lopes, Galvão, Mandira, Praia Grande, Camburi, Rio da Claudia, Bombas, João Surrá, Carmo, Biguazinho, Abobral, Cangume, Castelhanos, Morro Seco e Poças. Dessas, 14 já foram oficialmente reconhecidas ou estão em fase de reconhecimento como remanescentes de quilombos pelo ITESP (Instituto de Terras do Estado de São Paulo): Ivaporunduva, Maria Rosa, Pedro Cubas, Pilões, São Pedro, Cafundó, Caçandoca, Jaó, Sapatu, Nhunguara, André Lopes, Galvão, Mandira e Abobral.

A região do Vale do Ribeira foi alvo da exploração mineradora no século XVII. Na época muitos escravos foram levados à região para trabalharem nas minas de ouro e prata. Com o fim do ciclo de mineração o custo de manutenção dos escravos tornou-se elevado levando muitos senhores abandonarem seus escravos, que juntamente com outros fugidos fundaram populações agrícolas de subsistência. Esses povoados persistem até hoje e são os chamados remanescentes de quilombo.

As populações que foram alvo de nossos estudos vivem, em sua maioria, às margens do rio Ribeira do Iguape entre os municípios de Eldorado e Iporanga (Figura 8). São elas: Abobral (margem esquerda), André Lopes, Ivaporunduva, Galvão, Maria Rosa, Nhunguara, Pedro Cubas, Pilões, São Pedro e Sapatu. Atualmente, essas populações sobrevivem às margens dos últimos remanescentes de Mata Atlântica da Região Sudeste do Brasil. Seu modo de vida, tradicionalmente rural, encontra-se em transformação, pois há restrições ambientais à

sua agricultura de subsistência, à caça e à manutenção de certos animais em virtude da sobreposição das terras de quilombo com as de parques estaduais e áreas de proteção ambiental. Podemos afirmar que os remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira são populações que vivem a transição epidemiológica, sendo afetados simultaneamente por doenças resultantes da sua falta de acesso a serviços básicos de saneamento e saúde (como por exemplo, as doenças parasitárias) e por doenças freqüentes do mundo ocidental e moderno, como a hipertensão e a obesidade.

Os remanescentes de quilombos são modelos interessantes para o estudo das doenças de herança multifatorial, tais como a obesidade, quando comparados aos estudos realizados com populações de hospitais de grandes centros, que muitas vezes são heterogêneas do ponto de vista genético e sócio-ambiental. Do ponto de vista genético, é conhecido que os estudos de caso-controle têm seus resultados freqüentemente contaminados e questionados por diferenças de freqüências alélicas que não decorrem realmente do fenótipo em estudo, mas sim de diferenças na composição étnica das populações que constituem os grupos caso e controle. Esse problema pode ocasionar associações espúrias devido à estratificação populacional. Os remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira são populações miscigenadas (Cotrim e col, 2004). Porém, dados obtidos sobre diversos conjuntos de marcadores indicam que os componentes genéticos dessa mistura e suas proporções não diferem entre essas populações geograficamente muito próximas. De acordo com o estudo de Tang e col (2005), de um modo geral, populações geneticamente miscigenadas podem ser objeto de estudos caso-controle, sem artefatos significativos, desde que os indivíduos tenham a mesma origem geográfica, o que é o caso dos quilombos.

Diante da grande contribuição africana na formação das populações brasileiras, consideramos de grande importância o estudo das bases genéticas relacionadas à obesidade entre afro-descendentes, principalmente nas populações remanescentes de quilombos. Essas populações são parcialmente isoladas e mais homogêneas do ponto de vista da sua composição étnica e do seu modo de vida do que as populações das cidades. Além disso, por serem pequenas, prestam-se perfeitamente a certos estudos genealógicos que são praticamente impossíveis de serem realizados nas grandes cidades. Pelo que temos conhecimento, este é o primeiro estudo sobre associação de variantes gênicas à obesidade realizado com populações rurais e afro-descendentes.



Figura 7: Mapas dos estados de São Paulo e Paraná. Em verde, localização geográfica do Vale do Ribeira. O quadrado azul corresponde à área apresentada na Figura 8, onde se encontram as comunidades remanescentes de quilombos. Fonte: ISA – Instituto Socioambiental.

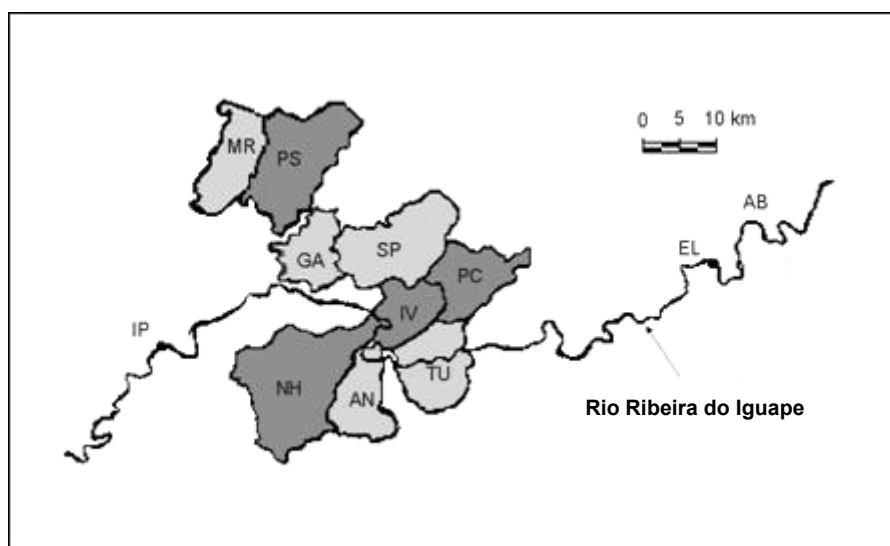


Figura 8: Localização das comunidades remanescentes de quilombo estudadas em nossa pesquisa. AB=Abobral Margem Esquerda. AN=André Lopes. EL=Eldorado. GA=Galvão. IP=Iporanga. IV=Ivaporunduva. MR=Maria Rosa. NH=Nhunguara. PC=Pedro Cubas. PS=Pilões. SP=São Pedro. TU=Sapatu.

II. Objetivos

O objetivo desse estudo foi investigar a associação entre polimorfismos presentes nos genes *LEP*, *LEPR*, *ADRB2*, *PPARG*, *PLIN*, *RETN* e *INSIG2* e caracteres relacionados à obesidade em populações afro-descendentes brasileiras localizadas na região do Vale do Ribeira, SP.

Para atingir esse objetivo foram selecionados os polimorfismos *LEP* A19G, *LEPR* Gln223Arg, *ADRB2* Arg16Gly, *PPARG* Pro12Ala, *PLIN* 6209T>C, *RETN* -420C>G e *INSIG2* rs7566605.

Além do estudo dos genes selecionados, visamos identificar também os principais fatores ambientais que influenciam o acúmulo de gordura corporal nessas populações.

VI. Conclusões

O estudo sobre os fatores de risco associados à obesidade, realizado com as populações de remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira, permitiu as seguintes conclusões:

- A frequência do sobrepeso e da obesidade é maior entre as mulheres (52% e 17,5%, respectivamente) que entre os homens (17,5% e 2,7%, respectivamente).
- O Grau de Atividade Física (GAF) é maior nos homens do que nas mulheres, devido ao estilo de vida dessas populações. Esse fato pode explicar a maior frequência de sobrepeso e da obesidade encontrada entre as mulheres.
- Apesar de o GAF estar relacionado às diferenças observadas entre homens e mulheres em relação ao IMC, a distribuição do GAF não é diferente entre os grupos de indivíduos do mesmo sexo com $IMC < 25$ ou $IMC \geq 25$, provavelmente devido à homogeneidade das atividades diárias praticadas por indivíduos do mesmo sexo.
- A alta frequência de sobrepeso e obesidade entre os indivíduos quilombolas, principalmente entre as mulheres, pode decorrer do processo de transição nutricional que essas populações atravessam ou ainda ser um reflexo dos problemas epidemiológicos e nutricionais sofridos na infância.
- Os parâmetros não-genéticos que parecem melhor explicar as variações do IMC nessas populações são o sexo e o tabagismo. A idade parece não exercer influência sobre o IMC. Em relação à Cc os parâmetros que melhor explicam suas variações são o sexo, a idade e o tabagismo e em relação à RCQ, apenas o sexo e a idade. O GAF parece não influenciar as variações do IMC, da Cc nem da RCQ.
- Entre as mulheres, o aumento do risco de apresentar fenótipos de sobrepeso medidos pelo IMC, Cc e RCQ está relacionado ao fato de não fumar (IMC e Cc), consumir bebida alcoólica (IMC) e ter mais idade (Cc e RCQ). Entre os homens, nenhum desses parâmetros está relacionado ao maior risco de apresentar sobrepeso.
- O alelo G do polimorfismo *LEPA19G* está associado a valores maiores de IMC, conforme indicado na análise que utilizou pares de irmãos.
- O alelo Gln do polimorfismo *LEPR Gln23Arg* está associado a valores maiores de IMC nas mulheres e RCQ nos homens, conforme indicaram as análises caso-controle, de comparação de medianas e regressões linear e logística.
- O alelo Arg do polimorfismo *ADRB2 Arg16Gly* está associado a valores maiores de Cc e RCQ apenas entre os homens, conforme indicaram as análises de comparação entre as medianas e a regressão linear.
- O alelo Ala do polimorfismo *PPARG Pro12Ala* está associado a valores maiores de IMC, Cc e RCQ nas mulheres, conforme indicado nas análises caso-controle, de comparação de medianas e de regressão linear.
- O alelo A do polimorfismo *PLIN 6209T>C* está associado a valores maiores de IMC e Cc entre as mulheres e a valores maiores de IMC, Cc e RCQ entre os homens, conforme indicaram os resultados obtidos com a análise de comparação entre medianas, regressão linear e regressão logística.

- Apenas entre as mulheres, o alelo G do polimorfismo *RETN -420C>G* está associado a valores mais altos de IMC e Cc, segundo indicaram os resultados obtidos com a comparação de medianas e com a regressão logística.
- Conforme apontaram os resultados das análises caso-controle e de comparação entre medianas, o alelo C do polimorfismo *INSIG2 rs7566605* está associado a valores maiores de Cc nas mulheres e IMC nos homens das populações de remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira.
- Nossos resultados indicam papel importante dos genes estudados na origem do sobrepeso e obesidade entre os indivíduos das populações de remanescentes de quilombos do Vale do Ribeira.

VII. Referências Bibliográficas

- Abecasis GR, Cardon LR and Cookson WO** A General Test of Association for Quantitative Traits in Nuclear Families. *Am J Hum Genet* 2000a; 66:279-292
- Abecasis GR, Cherny SS, Cookson WO and Cardon LR.** Merlin-rapid analysis of dense genetic maps using sparse gene flow trees. *Nat Genet* 2002; 30:97-101
- Abecasis GR, Cookson WO and Cardon LR** Pedigree tests of transmission disequilibrium. *Eur J Hum Genet* 2000b; 8:545-51
- Air EL, Strowski MZ, Benoit SC, et al.** Small molecule insulin mimetics reduce food intake and body weight and prevent development of obesity. *Nat Med*. 2002 Feb;8(2):179-83. Erratum in: *Nat Med* 2002; 8(3):303.
- Albanes D, Jones DY, Micozzi MS, Mattson ME.** Associations between smoking and body weight in the US population: analysis of NHANES II. *Am J Public Health*. 1987; 77(4):439-44.
- Allison DB, Heo M, Kaplan N, Martin ER.** Sibling-based tests of linkage and association for quantitative traits. *Am J Hum Genet* 1999; 64:1754-1764
- Allison DB, Heshka S, Neale MC, Heymsfield SB.** Race effects in the genetics of adolescents' body mass index. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1994; 18(6):363-8.
- Allison DB, Kaprio J, Korkeila M, Koskenvuo M, Neale MC, Hayakawa K.** The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996; 20(6):501-6.
- Allison DB.** Transmission-disequilibrium tests for quantitative traits. *Am J Hum Genet*. 1997; 60(3):676-90.
- Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, et al.** The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat. Genet*. 2000; 26:76-80.
- Angeli CB.** Variabilidade Genética em Populações Afro-Brasileiras: Estudo dos Locos DXS548, FRAXAC1 e D1S80. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre, Instituto do Biocências, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, 2003.
- Antonucci T, Whitcomb R, McLain R, Lockwood D, Norris RM.** Impaired glucose tolerance is normalized by treatment with the thiazolidinedione troglitazone. *Diabetes Care*. 1997 Feb;20(2):188-93. Erratum in: *Diabetes Care* 1998 Apr;21(4):678.
- Arner P, Hoffstedt J.** Adrenoceptor genes in human obesity. *J Intern Med*. 1999 Jun;245(6):667-72. Review.
- Aruna B, Ghosh S, Singh AK, Mande SC, Srinivas V, Chauhan R, Ehtesham NZ.** Human recombinant resistin protein displays a tendency to aggregate by forming intermolecular disulfide linkages. *Biochemistry*. 2003 Sep 16;42(36):10554-9.
- Barbieri M, Bonafe M, Rizzo MR, et al.** Gender specific association of genetic variation in peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma-2 with longevity. *Exp Gerontol*. 2004; 39:1095-100.
- Barroso I, Gurnell M, Crowley VE, Agostini M et al.** Dominant negative mutations in human PPARgamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature*. 1999 Dec 23-30;402(6764):880-3.
- Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S.** Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000 404: 644-51.

- Barsh GS, Schwartz MW.** Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. *Nat Rev Genet.* 2002 Aug;3(8):589-600. Review.
- Batista-Filho M, Rissin A.** Transição Nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cad. Saúde Pública.* 2003; 19 (Supl. 1): S181-S191.
- Beamer BA, Yen CJ, Andersen RE, et al.** Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator-activated receptor- gamma2 gene with obesity in two Caucasian populations. *Diabetes* 1998; 47;1806-1808.
- Bell GB, Walley AJ, Froguel P.** The Genetics of Human Obesity. *Nat Gen.* 2005 Mar 6; 221-234 Review.
- Berger J, Bailey P, Biswas C, Cullinan CA et al.** Thiazolidinediones produce a conformational change in peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma: binding and activation correlate with antidiabetic actions in db/db mice. *Endocrinology.* 1996a Oct;137(10):4189-95.
- Berger J, Biswas C, Hayes N, Ventre J, Wu M, Doebber TW.** An antidiabetic thiazolidinedione potentiates insulin stimulation of glycogen synthase in rat adipose tissues. *Endocrinology.* 1996b May;137(5):1984-90.
- Bermudez Ol., Tucker KL.** Trends in Dietary Patterns of Latin American Populations. *Cad. Saúde Pública.* 2003; 19 (Supl.1): S87-S99.
- Boehnke M, Langefeld CD.** Genetic association mapping based on discordant sib pairs: the discordant-alleles test. *Am J Hum Genet.* 1998; 62:950-961.
- Bogin B. Keep R.** Eight Thousand Years of Economic and Political History in Latin America Revealed by Anthropometry. *Annals of Human Biology.* 1999; 26(4): 333-351.
- Bouchard L, Weisnagel SJ, Engert JC, Hudson TJ, Bouchard C, Vohl MC, Pérusse L.** Human resistin gene polymorphism is associated with visceral obesity and fasting and oral glucose stimulated C-peptide in the Québec Family Study. *J Endocrinol Invest.* 2004; 27(11):1003-9.
- Boutin P, Froguel P.** Genetics of human obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;15(3):391-404. Review.
- Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W.** Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology.* 1996 Jan;137(1):354-66.
- Brasaemle DL, Rubin B, Harten IA, Gruia-Gray J, Kimmel AR, Londos C.** Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *J Biol Chem.* 2000; 275(49):38486-93.
- Bray GA, Tartaglia LA.** Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature* 2000 404: 672-77.
- Brun RP, Tontonoz P, Forman BM, Ellis R, Chen J, Evans RM, Spiegelman BM.** Differential activation of adipogenesis by multiple PPAR isoforms. *Genes Dev.* 1996 Apr 15;10(8):974-84.
- Butler MG, Hedges L, Hovis CL, Feurer ID.** Genetic variants of the human obesity (OB) gene in subjects with and without Prader-Willi syndrome: comparison with body mass index and weight. *Clin Genet.* 1998 Nov;54(5):385-93.
- Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ et al.** International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol Rev.* 1994 Jun;46(2):121-36. Review.

- Calle E, Thun M, Petrelli J et al.** Body-mass index and mortality in a prospective cohort of US adults. *N Engl J Méd.* 1999; 341: 1097-105.
- Canizales-Quinteros S, Aguilar-Salinas CA, Ortiz-López MG, Rodríguez-Cruz M, et al.** Association of PPAR γ 2 Pro12Ala variant with larger body mass index in Mestizo and Amerindian populations of Mexico. *Hum Biol.* 2007; 79(1):111-9.
- Caramori ML, Canani LH, Costa LA, Gross JL.** The human peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 (PPAR γ 2) Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52:3010-3013.
- Cardon LR, Carmelli D, Fabsitz RR, Reed T.** Genetic and environmental correlations between obesity and body fat distribution in adult male twins. *Hum Biol.* 1994; 66(3):465-79.
- CarvalhoJJ, Doria SZ, Oliveira ANJ.** O quilombo do Rio das Rãs-histórias tradições e lutas. EDUFBA, BA, 1995.
- Centers for Disease Control and Prevention.** 1997. Update: prevalence of overweigh among children and adults- USA, 1988-1994. *JAMA* 277: 1111.
- Chagnon YC, Chung WK, Perusse L, Chagnon M, Leibel RL, Bouchard C.** Linkages and associations between the leptin receptor (LEPR) gene and human body composition in the Quebec Family Study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999; 23:278–86.
- Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, et al.** Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:29 –34.
- Chen H, Vlahos R, Bozinovski S, Jones J, Anderson GP, Morris MJ.** Effect of short-term cigarette smoke exposure on body weight, appetite and brain neuropeptide Y in mice. *Neuropsychopharmacology.* 2005; 30(4):713-9.
- Chuang LM, Hsiung CA, Chen YD, Ho LT, et al.** Sibling-based association study of the PPAR γ 2 Pro12Ala polymorphism and metabolic variables in Chinese and Japanese hypertension families: a SAPPHiRe study. Stanford Asian-PaciWc Program in Hypertension and Insulin Resistance. *J. Mol. Med.* 2001; 79:656–664.
- Chung W.K., Leibel R.L.** Molecular physiology of syndromic obesities in humans, *Trends Endocrinol. Metab.* 2005; 16:267–272.
- Chung WK, Power-Kehoe L, Chua M, et al.** Exonic and intronic sequence variation in the human leptin receptor gene (LEPR). *Diabetes* 1997; 46:1509–11.
- Ciullo M, Nutile T, Dalmasso C, Sorice R, Bellenguez C, Colonna V, Persico MG, Bourgain C.** Identification and Replication of a Novel Obesity Locus on Chromosome 1q24 in Isolated Populations of Cilento. *Diabetes.* 2007; 27 [Epub ahead of print].
- Clement K, Hercberg S, Passinge B, et al.** The Pro115Gln and Pro12Ala PPAR gamma gene mutations in obesity and type 2 diabetes, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2000; 24:391-393.
- Clement K, Ruiz J, Cassard-Doulier AM, et al.** Additive effect of A \rightarrow G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1996 Dec;20(12):1062-6.
- Clement K, Vaisse C, Lahlou N, et al.** A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature.* 1998; 392:398–401.
- Clement K, Vaisse C, Manning BS. et al.** Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med.* 1995 Aug 10;333(6):352-4.

- Clement K.** Genetics of human obesity. *C. R. Biologie.* 2006; 329:608–622
- Cole SA, Mitchell BD, Hsueh WC, et al.** The Pro12Ala variant of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPAR-gamma2) is associated with measures of obesity in Mexican Americans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24:522– 4.
- Coleman DL, Hummel KP.** The effects of hypothalamics lesions in genetically diabetic mice. *Diabetologia.* 1970; 6(3):263-7
- Coleman DL, Hummel KP.** Effects of parabiosis of normal with genetically diabetic mice. *Am J Physiol.* 1969; 217(5):1298-304.
- Cone RD.** Haploinsufficiency of the melanocortin-4 receptor: part of a thrifty genotype? *J Clin Invest.* 2000 Jul;106(2):185-7.
- Conneely KN, Silander K, Scott LJ, et al.** Variation in the resistin gene is associated with obesity and insulin-related phenotypes in Finnish subjects. *Diabetologia.* 2004; 47: 1782–8.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML et al.** Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996 Feb 1;334(5):292-5.
- Corbalan MS, Marti A, Forga L, Martinez-Gonzalez MA, Martinez JA.** Beta(2)-adrenergic receptor mutation and abdominal obesity risk: effect modification by gender and HDL-cholesterol. *Eur J Nutr.* 2002 Jun;41(3):114-8.
- Corella D, Qi L, Sorlí JV, Godoy D, Portolés O, Coltell O, Greenberg AS, Ordovas JM.** Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(9):5121-6.
- Cotrim NH.** Variabilidade Genética das Inserções de Alu em Remanescentes de Quilombos. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre, Instituto do Biociências, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, 2003.
- Cotrim NH, Auricchio MT, Vicente JP, Otto PA, Mingroni-Netto RC.** Polymorphic Alu insertions in six Brazilian African-derived populations. *Am J Hum Biol.* 2004; 16(3):264-77.
- Danawati CW, Nagata M, Moriyama H, Hara K, et al.** A possible association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene with obesity in native Javanese in Indonesia. *Diabetes Metab Res Rev.* 2005; 21(5):465-9.
- de Silva AM, Walder KR, Boyko EJ, Whitecross KF. Et al.** Genetic variation and obesity in Australian women: a prospective study. *Obes Res.* 2001 Dec;9(12):733-40.
- Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, et al.** A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet.* 1998; 20:284 –7.
- Dina C, Meyre D, Samson C, Tichet J et al.** Comment on "A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity". *Science.* 2007 12; 315(5809):187; author reply 187. Comment on: *Science.* 2006; 14;312(5771):279-83.
- Doney A, Fischer B, Frew D, et al.** Haplotype analysis of the PPARgamma Pro12Ala and C1431T variants reveals opposing associations with body weight. *BMC Genet.* 2002; 3:21.
- Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu-Abreu V, Barroso SG, Braga JU, Cabello PH, Pimentel MM.** p.Q223R leptin receptor polymorphism associated with obesity in Brazilian multiethnic subjects. *Am J Hum Biol.* 2006 18(4):448-53.

- Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Dyer TD et al.** A major susceptibility locus influencing plasma triglyceride concentrations is located on chromosome 15q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet.* 2000 Apr;66(4):1237-45. Epub 2000 Mar 21.
- Echwald SM, Sorensen TD, Sorensen TI, et al.** Amino acid variants in the human leptin receptor: lack of association to juvenile onset obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 233:248–52.
- Ehrenborg E, Skogsberg J, Ruotolo G, Large V, Eriksson P, Arner P, Hamsten A.** The Q/E27 polymorphism in the beta2-adrenoceptor gene is associated with increased body weight and dyslipoproteinaemia involving triglyceride-rich lipoproteins. *J Intern Med.*; 2000. 247(6):651-6.
- Ek J, Urhammer SA, Sorensen TI, Andersen T, Auwerx J, Pedersen O.** Homozygosity of the Pro12Ala variant of the peroxisome proliferation- activated receptor-gamma2 (PPAR-gamma2): divergent modulating effects on body mass index in obese and lean Caucasian men. *Diabetologia.* 1999; 42:892–5.
- Elbrecht A, Chen Y, Cullinan CA, Hayes N, Leibowitz M, Moller DE, Berger J.** Molecular cloning, expression and characterization of human peroxisome proliferator activated receptors gamma 1 and gamma 2. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996 Jul; 224(2):431-7.
- Ellsworth DL, Coady SA, Chen W, et al.** Influence of the beta2-adrenergic receptor Arg16Gly polymorphism on longitudinal changes in obesity from childhood through young adulthood in a biracial cohort: the Bogalusa Heart Study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26:928 – 37.
- Elmquist JK.** Hypothalamic pathways underlying the endocrine, autonomic, and behavioral effects of leptin. *Physiol Behav.* 2001 Nov-Dec;74(4-5):703-8. Review.
- Endo K, Yanagi H, Hirano C, et al.** Association of Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene and no association of Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor gene in Japanese schoolchildren with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24:443–9.
- Engert JC, Vohl MC, Williams SM et al.** 5' flanking variants of resistin are associated with obesity. *Diabetes.* 2002; 51:1629 –34.
- Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD.** Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature.* 1996 ;381(6581):415-21.
- Eriksson JG, Lindi V, Uusitupa M, et al.** The effects of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene on insulin sensitivity and insulin metabolism interact with size at birth. *Diabetes.* 2002; 51:2321–2324.
- Eriksson P, Dahlman I, Ryden M, Hoffstedt J, Arner P.** Relationship between beta-2 adrenoceptor gene haplotypes and adipocyte lipolysis in women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004 Feb;28(2):185-90.
- Fabsitz RR, Carmelli D, Hewitt JK.** Evidence for independent genetic influences on obesity in middle age. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1992; 16(9):657-66.
- Fajas, L., Auboeuf, D., Raspe, E., Schoonjans, K. et al.** The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR-gamma gene. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 18779-18789.
- Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GS, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S.** Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1085–95.

- Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, et al.** Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest.* 2002; 110:1093–103.
- Farooqi IS, O’Rahilly S.** Monogenic human obesity syndromes. *Recent Prog. Horm. Res.* 2004; 59:409–424.
- Farooqi IS, O’Rahilly S.** Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med.* 2005; 56:443–58.
- Farooqi IS, Yeo GS, Keogh JM, et al.** Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *J Clin Invest.* 2000; 106:271–9.
- Feitosa MF, Krieger H.** O futuro da epidemiologia genética de características complexas. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2002; 7(1):73-83.
- Ferrara CM, Kumar M, Nicklas B, McCrone S, Goldberg AP.** Weight gain and adipose tissue metabolism after smoking cessation in women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001; 25(9):1322-6.
- Ferreira HS.** Mulheres Obesas de Baixa Estatura e seus Filhos Desnutridos. *Estudos Avançados.* 2006; 20 (58): 159-166.
- Filozof C, Fernandez Pinilla MC, Fernandez-Cruz A.** Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev.* 2004; 5(2):95-103.
- Flegal KM, Carroll MD, Kuczmarski RJ, Johnson CL.** Overweight and obesity in United States: prevalence and trends, 1960-1994. *Int J Obes* 1998; 22: 39-47.
- Flier JS, Harris M, Hollenberg AN.** Leptin, nutrition, and the thyroid: the why, the wherefore, and the wiring. *J Clin Invest.* 2000 Apr;105(7):859-61.
- Flier JS.** Diabetes. The missing link with obesity? *Nature.* 2001 Jan 18; 409(6818): 292-3.
- Florêncio T., Ferreira H., Tojal A., Cavalcante J., Sawaya, A.** Obesity and Undernutrition in a Very Low Income Population of the City of Maceió, Northeastern Brazil. *British Journal of Nutrition.* 2001; 86: 277-283.
- Fornage M, Jacobs DR, Steffes MW, Gross MD, Bray MS, Schreiner PJ.** Inverse effects of the PPAR(gamma)2 Pro12Ala polymorphism on measures of adiposity over 15 years in African Americans and whites: the CARDIA study. *Metabolism.* 2005; 54:910 –7.
- Franks PW, Jablonski KA, Delahanty L, et al.** Diabetes Prevention Program Research Group. The Pro12Ala variant at the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene and change in obesity-related traits in the Diabetes Prevention Program. *Diabetologia.* 2007; 50(12):2451-60.
- Franks PW, Luan J, Browne PO, Harding AH, et al.** Does peroxisome proliferator-activated receptor gamma genotype (Pro12Ala) modify the association of physical activity and dietary fat with fasting insulin level? *Metabolism* 2004; 53; 11–16.
- Frederiksen L, Brodbæk K, Fenger M, et al.** Comment: studies of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma gene in the Danish MONICA cohort: homozygosity of the Ala allele confers a decreased risk of the insulin resistance syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87:3989–3992.
- Friedman JM, Halaas JL.** Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998; 22;395(6704):763-70. Review.
- Friedman JM.** Obesity in the new millennium. *Nature* 2000; 404:632-34.

- Friedrich MJ.** Epidemic of obesity expands its spread to developing countries. *JAMA* 2002; 287: 1382-86.
- Frisancho R.A.** Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status. 1990. The University of Michigan Press, USA.
- Froom P, Melamed S, Benbassat J.** Smoking cessation and weight gain. *J Fam Pract.* 1998; 46(6):460-4.
- Fulker DW, Cherny SS, Sham PC, Hewitt JK.** Combined linkage and association sib-pair analysis for quantitative traits. *Am J Hum Genet.* 1999; 64(1):259-67.
- Garenc C, Perusse L, Chagnon YC, et al.** Effects of beta2-adrenergic receptor gene variants on adiposity: the HERITAGE Family Study. *Obes Res.* 2003; 11:612– 8.
- Garenc C, Perusse L, Chagnon YC, et al.** The alpha 2-adrenergic receptor gene and body fat content and distribution: the HERITAGE Family Study. *Mol Med.* 2002; 8(2):88-94.
- Gomez-Ambrosi J, Fruhbeck G.** Do resistin and resistin-like molecules also link obesity to inflammatory diseases? *Ann Intern Med.* 2001 Aug 21;135(4):306-7.
- Gonzalez Sanchez JL, Serrano Rios M, Fernandez Perez C, et al.** Effect of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 gene on adiposity, insulin sensitivity and lipid profile in the Spanish population. *Eur J Endocrinol.* 2002; 147(4):495-501.
- Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, et al.** Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. *Hum Mol Genet.* 1997; 6(6):869-76.
- Greenberg AS, Egan JJ, Wek SA, Garty NB, et al.** Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets. *J Biol Chem.* 1991; 266(17):11341-6.
- Greenberg AS, Egan JJ, Wek SA, Moos MC Jr, Londos C, Kimmel AR.** Isolation of cDNAs for perilipins A and B: sequence and expression of lipid droplet-associated proteins of adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Dec 15;90(24):12035-9.
- Guizar-Mendoza JM, Amador-Licona N, Flores-Martinez SE, et al.** Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *J Hum Hypertens.* 2005; 19:341– 6.
- Hager J, Clement K, Francke S, et al.** A polymorphism in the 5' untranslated region of the human ob gene is associated with low leptin levels. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998; 22:200 –5.
- Hall DH, Rahman T, Avery PJ, Keavney B.** INSIG-2 promoter polymorphism and obesity related phenotypes: association study in 1428 members of 248 families. *BMC Med Genet.* 2006; 30;7:83.
- Hamann A, Munzberg H, Buttron P, et al.** Missense variants in the human peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene in lean and obese subjects. *Eur. J. Endocrinol.* 1999;141:90–92.
- HapMap** - <http://www.hapmap.org>.
- Hara K, Okada T, Tobe K, Yasuda K, et al.** The Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma2 may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 271:212– 216.

- Hara M, Alcoser SY, Qadir A, Beiswenger KK, Cox NJ, Ehrmann DA.** Insulin resistance is attenuated in women with polycystic ovary syndrome with the Pro(12)Ala polymorphism in the PPARgamma gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87:772–775.
- Hart-Sailors ML, Folsom AR, Ballantyne CM, Hoelscher DM, Jackson AS, Linda Kao WH, Pankow JS, Bray MS.** Genetic variation and decreased risk for obesity in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes Obes Metab.* 2007; Jul;9(4):548-57.
- Hasstedt SJ, Ren QF, Teng K, Elbein SC.** Effect of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 pro(12)ala variant on obesity, glucose homeostasis, and blood pressure in members of familial type 2 diabetic kindreds. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(2):536-41.
- Heo M, Leibel RL, Boyer BB, et al.** Pooling analysis of genetic data: the association of leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics.* 2001; 159(3):1163-78.
- Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, et al.** A meta-analytic investigation of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26(5):640-6
- Herbert A, Gerry NP, McQueen MB, Heid IM, Pfeufer A. et al.** A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity. *Science.* 2006; 312(5771):279-83.
- Hill JO, Peters JC.** Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science* 1998; 208:1371-74.
- Hoffstedt J, Eriksson P, Mottagui-Tabar S, Arner P.** A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res.* 2002; 34(7):355-9.
- Hoffstedt J, Iliadou A, Pedersen NL, Schalling M, Arner P.** The effect of the beta(2) adrenoceptor gene Thr164Ile polymorphism on human adipose tissue lipolytic function. *Br J Pharmacol.* 2001; 133(5):708-12.
- Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW. et al.** FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *EMBO J.* 2000; 19(15): 4046-55.
- Horvath S, Laird NM.** A discordant-sibship test for disequilibrium and linkage: no need for parental data. *Am J Hum Genet.* 1998; 63:1886–1897.
- Hotamisligil GS.** The irresistible biology of resistin. *J Clin Invest.* 2003 Jan;111(2):173-4.
- Huxley RR, Shiell AW, Law CM.** The role of size at birth and postnatal catch-up growth in determining systolic blood pressure: a systematic review of the literature. *Journal of Hypertension.* 2000; 18(7): 815-831.
- Ishiyama-Shigemoto S, Yamada K, Yuan X, Ichikawa F, Nonaka K.** Association of polymorphisms in the beta 2-ad- renergic receptor gene with obesity, hypertriglyceridaemia, and diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1999; 42:98 –101.
- Isse N, Ogawa Y, Tamura N, Masuzaki H. et al.** Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem.* 1995 Nov 17;270(46):27728-33.
- Iwamoto Y, Kosaka K, Kuzuya T. et al.** Effects of troglitazone: a new hypoglycemic agent in patients with NIDDM poorly controlled by diet therapy. *Diabetes Care.* 1996; 19(2):151-6.
- Jackson RS, Creemers JW, Farooqi IS, et al.** Smallintestinal dysfunction accompanies the complex endocrinopathy of human proprotein convertase 1 deficiency. *J Clin Invest.* 2003; 112:1550–60.

- Jackson RS, Creemers JWM, Ohagi S, et al.** Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet.* 1997; 16:303–6.
- Jacob S, Stumvoll M, Becker R, et al.** The PPARgamma2 polymorphism pro12Ala is associated with better insulin sensitivity in the offspring of type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 2000; 32:413–416.
- Jang Y, Kim OY, Lee JH, Koh SJ, Chae JS, Kim JY, Park S, Cho H, Lee JE, Ordovas JM.** Genetic variation at the perilipin locus is associated with changes in serum free fatty acids and abdominal fat following mild weight loss. *Int J Obes.* 2006; 30(11):1601-8.
- Janke J, Engeli S, Gorzelnik K, Luft FC, Sharma AM.** Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res.* 2002 Jan; 10(1):1-5.
- Jefferies CA, Hofman PL, Knoblauch H, Luft FC, Robinson EM, Cutfield WS.** Insulin resistance in healthy prepubertal twins. *J Pediatr.* 2004; 144(5):608-13.
- Jiang Y, Wilk JB, Borecki I, Williamson S. et al.** Common variants in the 5' region of the leptin gene are associated with body mass index in men from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Hum Genet.* 2004; 75(2):220-30.
- Kain J., Vio F., Albala C.** Obesity Trends and Determinant Factors in Latin America. *Cad. Saúde Pública.* 2003; 19 (Supl. 1): S77-S86.
- Kao WH, Coresh J, Shuldiner AR, Boerwinkle E, Bray MS, Brancati FL.** Pro12Ala of the peroxisome proliferator- activated receptor-gamma2 gene is associated with lower serum insulin levels in nonobese African Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes.* 2003; 52:1568 –72.
- Karvonen MK, Pesonen U, Heinonen P, Laakso M. et al.** Identification of new sequence variants in the leptin gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998a; 83(9):3239-42.
- Karvonen MK, Pesonen U, Koulu M, Niskanen L. et al.** Association of a leucine(7)-to-proline(7) polymorphism in the signal peptide of neuropeptide Y with high serum cholesterol and LDL cholesterol levels. *Nat Med.* 1998b; 4(12):1434-7.
- Kennedy CG .** The role of depot fat in hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond.* 1953; 140: 578-92.
- Kim K, Lee S, Valentine RJ.** Association of pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferative-activated receptor gamma2 gene with obesity and hypertension in Korean women. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2007; 53(3):239-46.
- Kim KS, Choi SM, Shin SU, Yang HS, Yoon Y.** Effects of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 Pro12Ala polymorphism on body fat distribution in female Korean subjects. *Metabolism.* 2004; 53:1538–43.
- Kistner EO, Weinberg CR.** A method for identifying genes related to a quantitative trait, incompleting multiple siblings and missing parents. *Genet Epidemiol* 2005; 29:155–165.
- Kistner EO, Weinberg CR.** Method for using complete and incomplete trios to identify genes related to quantitative trait. *Genet Epidemiol* 2004; 27:33–42.
- Klein LC, Corwin EJ, Ceballos RM.** Leptin, hunger, and body weight: Influence of gender, tobacco smoking, and smoking abstinence. *Addict Behav.* 2004; 29(5):921-7.
- Klesges RC, Ward KD, Ray JW, Cutter G, Jacobs DR Jr, Wagenknecht LE.** The prospective relationships between smoking and weight in a young, biracial cohort: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *J Consult Clin Psychol.* 1998; 66(6):987-93.

- Klesges RC, Winders SE, Meyers AW, Eck LH, Ward KD, Hultquist CM, et al.** How much weight gain occurs following smoking cessation? A comparison of weight gain using both continuous and point prevalence abstinence. *J Consult Clin Psychol.* 1997; 65(2):286-91.
- Koch M, Rett K, Maerker E, et al.** The PPARgamma2 amino acid polymorphism Pro 12 Ala is prevalent in offspring of Type II diabetic patients and is associated to increased insulin sensitivity in a subgroup of obese subjects. *Diabetologia* 1999; 42:758–762.
- Kohno D, Gao HZ, Muroya S, Kikuyama S, Yada T.** Ghrelin directly interacts with neuropeptide-Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus: Ca²⁺ signaling via protein kinase A and N-type channel-dependent mechanisms and cross-talk with leptin and orexin. *Diabetes.* 2003; 52(4):948-56.
- Kopelman PG.** Obesity as a medical problem. *Nature* 2000; 404: 635-43.
- Korkeila M, Kaprio J, Rissanen A, Koskenvuo M.** Effects of gender and age on the heritability of body mass index. *Int J Obes.* 1991; 15(10):647-54.
- Koumanis DJ, Christou NV, Wang XL, Gilfix BM.** Pilot study examining the frequency of several gene polymorphisms in a morbidly obese population. *Obes Surg.* 2002; 12:759–64.
- Krude H., Biebermann H., Schnabel D., Tansek M.Z., et al.** Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4-10. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88:4633–4640.
- Kumar J, Sunkishala RR, Karthikeyan G, Sengupta S.** The common genetic variant upstream of INSIG2 gene is not associated with obesity in Indian population. *Clin Genet.* 2007; 71(5):415-8.
- Laird NM, Horvath S, Xu X.** Implementing a unified approach to family-based tests of association. *Genet Epidemiol.* 2000; (Suppl. 19):S36–S42.
- Lange C, DeMeo DL, Laird NM.** Power and design considerations for a general class of family-based association tests: quantitative traits. *Am J Hum Genet.* 2002; 71:1330–1341.
- Lange LA, Norris JM, Langefeld CD, et al.** Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study. *Int J Obes.* 2005; 29:449 –57.
- Large V, Hellstrom L, Reynisdottir S, et al.** Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. *J Clin Invest.* 1997; 100:3005–13.
- Latruffe N, Vamecq J.** Peroxisome proliferators and peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) as regulators of lipid metabolism. *Biochimie.* 1997; 79(2-3):81-94. Review.
- Le Lay S, Boucher J, Rey A. et al.** Decreased resistin expression in mice with different sensitivities to a high-fat diet. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 30;289(2):564-7.
- Le Stunff C, Le Bihan C, Schork NJ, Bougneres P.** A common promoter variant of the leptin gene is associated with changes in the relationship between serum leptin and fat mass in obese girls. *Diabetes.* 2000; 49(12):2196-200.
- Lean MEJ, Hans TS, Seidell JC.** Impairment of health and quality of life in people with large waist circumference. *Lancet* 1998; 351: 853-56.
- Leineweber K, Buscher R, Bruck H, Brodde OE.** Beta-adrenoceptor polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2004 Jan;369(1):1-22. Review.

- Li WD, Lee JH, Price RA.** The peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 Pro12Ala mutation is associated with early onset extreme obesity and reduced fasting glucose, *Mol. Genet. Metab.* 2000; 70:159–161.
- Li WD, Reed DR, Lee JH, et al.** Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet.* 1999; 63:227–34.
- Liggett SB.** Functional properties of human β 2-adrenergic receptor polymorphisms. *New Physiol Sci.* 1995 10:265-273.
- Lindi V, Sivenius K, Niskanen L, Laakso M, Uusitupa MI.** Effect of the Pro12Ala polymorphism of the PPARgamma2 gene on long-term weight change in Finnish nondiabetic subjects. *Diabetologia.* 2001; 44:925– 6.
- Lindi VI, Uusitupa MI, Lindstrom J, et al.** Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR-gamma2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes.* 2002; 51:2581– 6.
- Liu YJ, Rocha-Sanchez SM, Liu PY. et al.** Tests of linkage and/or association of the LEPR gene polymorphisms with obesity phenotypes in Caucasian nuclear families. *Physiol Genomics.* 2004; 17(2):101-6.
- Londos C, Brasaemle DL, Gruia-Gray J. et al.** Perilipin: unique proteins associated with intracellular neutral lipid droplets in adipocytes and steroidogenic cells. *Biochem Soc Trans.* 1995; 23(3):611-5. Review.
- Loos RJ, Barroso I, O'rahilly S, Wareham NJ.** Comment on "A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity". *Science* 2007; 12;315(5809):187; author reply 187. Comment on: *Science.* 2006; 14;312(5771):279-83.
- Lu X, Gruia-Gray J, Copeland NG, Gilbert DJ. et al.** The murine perilipin gene: the lipid droplet-associated perilipins derive from tissue-specific, mRNA splice variants and define a gene family of ancient origin. *Mamm Genome.* 2001; 12(9):741-9.
- Luan J, Browne PO, Harding AH, Halsall DJ, et al.** Evidence for gene-nutrient interaction at the PPARgamma locus. *Diabetes.* 2001; 50(3):686-9.
- Lunetta KL, Faraone SV, Biederman J, Laird NM.** Family-based tests of association and linkage that use unaffected sibs, covariates, and interaction. *Am J Hum Genet.* 2000; 66:605–614.
- Lyon HN, Emilsson V, Hinney A, Heid IM, Lasky-Su J, Zhu X, Thorleifsson G et al.** The association of a SNP upstream of INSIG2 with body mass index is reproduced in several but not all cohorts. *PLoS Genet.* 2007; 27;3(4):e61.
- Ma X, Warram JH, Trischitta V, Doria A.** Genetic variants at the resistin locus and risk of type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(9):4407-10.
- Madedo-Souza LI.** Variabilidade Molecular do Cromossomo Y em Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre, Instituto do Biociências, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, 2003.
- Maeda A, Gohda T, Funabiki K, Horikoshi S, Tomino Y.** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene polymorphism is associated with serum triglyceride levels and body mass index in Japanese type 2 diabetic patients. *J Clin Lab Anal.* 2004; 18:317–21.
- Mammes O, Aubert R, Betoulle D, Pean F, Herbeth B, Visvikis S, Siest G, Fumeron F.** LEPR gene polymorphisms: associations with overweight, fat mass and response to diet in women. *Eur J Clin Invest.* 2001; 31(5):398-404.

- Mammes O, Betoulle D, Aubert R, et al.** Novel polymorphisms in the 5' region of the LEP gene: association with leptin levels and response to low-calorie diet in human obesity. *Diabetes*. 1998; 47:487–9.
- Mancini FP, Vaccaro O, L. Sabatino L, et al.** Pro12Ala substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 is not associated with type 2 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 1466–1468.
- Manson JE.** Body weight and mortality among women. *N Engl J Med* 1995; 333: 677-85.
- Martin ER, Kaplan NL, Weir BS.** Tests of linkage and association in nuclear families. *Am J Hum Genet*. 1997; 61:439–448.
- Martin ER, Monks SA, Warren LL, Kaplan NL.** A test for linkage and association in general pedigrees: the pedigree disequilibrium test. *Am J Hum Genet*. 2000; 67:146–154.
- Martinez-Botas J, Anderson JB, Tessier D. et al.** Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat Genet*. 2000; 26(4):474-9.
- Martins PA., Sawaya AL.** 2006. Evidence for Impaired Insulin Production and Higher Sensitivity in Stunted Children Living in Slums. *British Journal of Nutrition*. 2006; 95: 996-1001.
- Masud S, Ye S; SAS Group.** Effect of the peroxisome proliferator activated receptor-gamma gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta-analysis. *J Med Genet*. 2003; 40(10):773-80.
- Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, et al.** Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. *Diabetologia* 1997; 40:1204–10.
- Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH.** A resistin gene polymorphism is associated with body mass index in women. *Hum Genet*. 2004; 115:208–12.
- 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; 26:1179–85.
- Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH.** Effects of a PPARG gene variant on obesity characteristics in Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2007; 40(7):927-32.
- Mattevi VS, Zembrzuski VM, Hutz MH.** Impact of variation in ADRB2, ADRB3, and GNB3 genes on body mass index and waist circumference in a Brazilian population. *Am J Hum Biol*. 2006; 18(2):182-6
- Meirhaeghe A, Amouyel P.** Impact of genetic variation of PPARgamma in humans. *Mol Genet Metab*. 2004; 83(1-2):93-102. Review.
- Meirhaeghe A, Fajas L, Helbecque N, et al.** A genetic polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene influences plasma leptin levels in obese humans. *Hum Mol Genet*. 1998; 7:435– 40.
- Meirhaeghe A, Fajas L, Helbecque N, et al.** Impact of the peroxisome proliferator activated receptor gamma2 Pro12Ala polymorphism on adiposity, lipids and non-insulin- dependent diabetes mellitus. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000a; 24:195–9.
- Meirhaeghe A, Helbecque N, Cottel D, Amouyel P.** Beta2- adrenoceptor gene polymorphism, body weight, and physical activity. *Lancet*. 1999; 353:896.
- Meirhaeghe A, Helbecque N, Cottel D, Amouyel P.** Impact of polymorphisms of the human beta2-adrenoceptor gene on obesity in a French population. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000b; 24:382–7.

- Meirhaeghe A, Luan J, Selberg-Franks P, et al.** The effect of the Gly16Arg polymorphism of the beta(2)-adrenergic receptor gene on plasma free fatty acid levels is modulated by physical activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:5881–7.
- Meirhaeghe A, Tanck MW, Fajas L, et al.** Study of a new PPARgamma2 promoter polymorphism and haplotype analysis in a French population. *Mol Genet Metab.* 2005; 85:140–8.
- Memisoglu A, Hankinson SE, Manson JE, et al.** Lack of association of the codon 12 polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene with breast cancer and body mass. *Pharmacogenetics* 2002; 12:597-603.
- Mendonça CP, Anjos LA.** Aspectos das Práticas Alimentares e da Atividade Física como Determinantes do Crescimento do Sobrepeso/Obesidade no Brasil. *Cad. Saúde Pública.* 2004; 20(3): 698-709.
- Miles PD, Barak Y, He W, Evans RM, Olefsky JM.** Improved insulin-sensitivity in mice heterozygous for PPAR-gamma deficiency. *J Clin Invest.* 2000; 105(3):287-92.
- Monks SA, Kaplan NL, Weir BS.** A comparative study of sibship tests of linkage and/or association. *Am J Hum Genet.* 1998 ;63(5):1507-16.
- Monks SA, Kaplan NL.** Removing the sampling restrictions from family-based tests of association for a quantitative-trait locus. *Am J Hum Genet.* 2000; 66:576–592.
- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al.** Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.* 1997;387:903-8.
- Monteiro CA., Conde WL., Popkin BM.** Is Obesity Replacing or Adding to Undernutrition? Evidence from Different Social Classes in Brazil. *Public Health Nutrition.* 2002; 5 (1A): 105-112.
- Moore GB, Chapman H, Holder JC, Lister CA. et al.** Differential regulation of adipocytokine mRNAs by rosiglitazone in db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 31;286(4):735-41.
- Moore GE, Shuldiner AR, Zmuda JM, Ferrell RE, McCole SD, Hagberg JM.** Obesity gene variant and elite endurance performance. *Metabolism.* 2001a Dec;50(12):1391-2.
- Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Seino S, et al.** The Pro12!Ala substitution in PPARgamma is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 2001; 50:891–894.
- Mori Y, Kim-Motoyama H, Ito Y, Katakura T, Yasuda K. et al.** The Gln27Glu beta2-adrenergic receptor variant is associated with obesity due to subcutaneous fat accumulation in Japanese men. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 29;258(1):138-40.
- Mori Y, Kim-Motoyama H, Katakura T, et al.** Effect of the Pro12Ala variant of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 gene on adiposity, fat distribution, and insulin sensitivity in Japanese men. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;251:195-198.
- Mori Y, Otabe S, Dina C, Yasuda K, Populaire C. et al.** Genome-wide search for type 2 diabetes in Japanese affected sib-pairs confirms susceptibility genes on 3q, 15q, and 20q and identifies two new candidate Loci on 7p and 11p. *Diabetes.* 2002; 51(4):1247-55.
- Mottagui-Tabar S, Ryden M, Lofgren P, et al.** Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. *Diabetologia.* 2003; 46:789 –97.

- Muller YL, Bogardus C, Beamer BA, Shuldiner AR, Baier LJ.** A functional variant in the peroxisome proliferator- activated receptor gamma2 promoter is associated with predictors of obesity and type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes*. 2003; 52:1864 –71.
- Neel JV.** Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress” ? *Am J Hum Genet* 1962; 14: 353-62.
- Nicklas BJ, van Rossum EF, Berman DM, Ryan AS, Dennis KE, Shuldiner AR.** Genetic variation in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene (Pro12Ala) affects metabolic responses to weight loss and subsequent weight regain. *Diabetes*. 2001; 50:2172– 6.
- Nishiu J, Tanaka T, Nakamura Y.** Isolation and chromosomal mapping of the human homolog of perilipin (PLIN), a rat adipose tissue-specific gene, by differential display method. *Genomics*. 1998; 48(2):254-7.
- Oh EY, Min KM, Chung JH, Min YK, et al.** Significance of Pro12Ala mutation in peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 in Korean diabetic and obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 1801-1804.
- Oksanen L, Ohman M, Heiman M, Kainulainen K. et al.** Markers for the gene ob and serum leptin levels in human morbid obesity. *Hum Genet.* 1997; 99(5):559-64.
- Oliveira Jr NA, Stucchi D, Chagas MF, Brasileiro SS.** Comunidades Negras de Ivaporunduva, São Pedro, Sapatu, Nhunguara, André Lopes, Maria Rosa e Pilões in Andrade T, Pereira CAC, Andrade MRO (eds.) – Negros do Ribeira: reconhecimento étnico e conquista do território. ITESP: Páginas & Letras, Editora Gráfica, SP, 2000.
- Orio F Jr, Matarese G, Di Biase S, Palomba S. et al.** Exon 6 and 2 peroxisome proliferator-activated receptor-gamma polymorphisms in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(12):5887-92.
- Ostergard T, Ek J, Hamid Y, et al.** Influence of the PPAR-gamma2 Pro12Ala and ACE I/D polymorphisms on insulin sensitivity and training effects in healthy offspring of type 2 diabetic subjects. *Horm Metab Res.* 2005; 37:99–105.
- Paracchini V, Pedotti P, Taioli E.** Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005; 162(2):101-14.
- Pereira AC, Floriano MS, Mota GF, Cunha RS, Herkenhoff FL, Mill JG, Krieger JE.** Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population. *Hypertension*. 2003; 42(4):685-92.
- Perusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC. et al.** The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res.* 2005; 13(3):381-490
- Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional do Brasil. IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. <http://www.ibge.gov.br>.
- Pihlajamaki J, Miettinen R, Valve R, et al.** The Pro12A1a substitution in the peroxisome proliferator activated receptor gamma 2 is associated with an insulin-sensitive phenotype in families with familial combined hyperlipidemia and in nondiabetic elderly subjects with dyslipidemia, *Atherosclerosis* 2000;151:567–574.
- Pihlajamaki J, Vanhala M, Vanhala P, Laakso M.** The Pro12Ala polymorphism of the PPAR gamma 2 gene regulates weight from birth to adulthood. *Obes Res.* 2004; 12: 187–90.

- Pistilli EE, Gordish-Dressman H, Seip RL, Devaney JM, et al.** Resistin polymorphisms are associated with muscle, bone, and fat phenotypes in white men and women. *Obesity*. 2007;15(2):392-402.
- Pizzuti A, Argiolas A, Di Paola R, Baratta R, et al.** An ATG repeat in the 3'-untranslated region of the human resistin gene is associated with a decreased risk of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(9):4403-6.
- Popkin BM.** The Nutrition Transition and Obesity in the Developing World. *Journal of Nutrition*. 2001; 131: 871S-873S.
- Popkin BM.** The Nutrition Transition in the Developing World. *Development Policy Review*. 2003; 21 (5-6): 581-597.
- Portolés O, Sorlí JV, Francés F, et al.** Genetic and Molecular Epidemiology Unit. Department of Preventive Medicine and Public Health. School of Medicine, University of Valencia, Avda. Blasco Ibañez 15, 46010 Valencia, Spain. *Eur J Epidemiol*. 2006; 21(8):605-12.
- Poulsen P, Andersen G, Fenger M, et al.** Impact of two common polymorphisms in the PPARgamma gene on glucose tolerance and plasma insulin proWles in monozygotic and dizygotic twins: thrifty genotype, thrifty phenotype, or both? *Diabetes* 2003; 52: 194–198.
- Qi L, Corella D, Sorli J, et al.** Genetic variation at the perilipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in White women. *Clin Genet*. 2004a; 66:299–310.
- Qi L, Shen H, Larson I, Schaefer EJ, et al.** Gender-specific association of a perilipin gene haplotype with obesity risk in a white population. *Obes Res*. 2004b; 12(11):1758-65.
- Qi L, Tai ES, Tan CE, Shen H, Chew SK, Greenberg AS, Corella D, Ordovas JM.** Intragenic linkage disequilibrium structure of the human perilipin gene (PLIN) and haplotype association with increased obesity risk in a multiethnic Asian population. *J Mol Med*. 2005; 83(6):448-56.
- Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI.** A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet*. 2001 ;108: 233–6.
- Rabinowitz D, Laird NM.** A unified approach to adjusting association tests for population admixture with arbitrary pedigree structure and arbitrary missing marker information. *Hum Hered*. 2000; 50:211–223.
- Rabinowitz D.** A transmission disequilibrium test for quantitative trait loci. *Hum Hered*. 1997; 47(6):342-50.
- Rajala MW, Lin Y, Ranalletta M, Yang XM. et al.** Cell type-specific expression and coregulation of murine resistin and resistin-like molecule-alpha in adipose tissue. *Mol Endocrinol*. 2002; 16(8): 1920-30.
- Rankinen T, Perusse L, Weisnagel SJ, Snyder EE, Chagnon YC, Bouchard C.** The human obesity gene map: the 2001 update. *Obes Res*. 2002; 10(3):196-243. Review.
- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ. et al.** The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity*. 2006; 14(4):529-644. Review.
- Ravussin E, Bouchard C.** Human genomics and obesity: finding appropriate drug targets. *Eur J Pharmacol*. 2000; 410(2-3):131-145. Review.
- Rea R, Donnelly R.** Resistin: an adipocyte-derived hormone. Has it a role in diabetes and obesity? *Diabetes Obes Metab*. 2004; 6(3):163-70. Review.

- Ridker PM, Cook NR, Cheng S, et al.** Alanine for proline substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 (PPARG2) gene and the risk of incident myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23:859-863.
- Ringel J, Engeli S, Distler A, Sharma AM.** Pro12Ala missense mutation of the peroxisome proliferator activated receptor gamma and diabetes mellitus, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 254:450-453.
- Ristow M, Muller-Wieland D, Pfeiffer A, et al.** Obesity associated with a mutation in a genetic regulator of adipocyte differentiation. *N Engl J Med.* 1998; 339(14):953-9.
- Robitaille J, Despres JP, Perusse L, Vohl MC.** The PPAR-gamma P12A polymorphism modulates the relationship between dietary fat intake and components of the metabolic syndrome: results from the Quebec Family Study. *Clin Genet.* 2003; 63:109-16.
- Rosmond R, Chagnon M, Bouchard C.** The Pro12Ala PPARgamma2 gene missense mutation is associated with obesity and insulin resistance in Swedish middle-aged men. *Diabetes Metab Res Rev.* 2003; 19:159-63.
- Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, et al.** Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000a; 85(9):3126-31.
- Rosmond R, Ukkola O, Chagnon M, Bouchard C, Bjorntorp P.** Polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor gene (ADRB2) in relation to cardiovascular risk factors in men. *J Intern Med.* 2000b; 248:239-44.
- Ross JA, Oeffinger KC, Davies SM, et al.** Genetic variation in the leptin receptor gene and obesity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol.* 2004; 22: 3558-62.
- Roszkopf D, Bornhorst A, Rimmbach C, Schwahn C, et al.** Comment on "A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity". *Science.* 2007 12; 315(5809):187; author reply 187. Comment on: *Science.* 2006; 14:312(5771):279-83.
- Salopuro T, Pulkkinen L, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, et al.** Genetic variation in leptin receptor gene is associated with type 2 diabetes and body weight: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Int J Obes.* 2005; 29(10):1245-51.
- Sandouk T, Reda D, Hofmann C.** Antidiabetic agent pioglitazone enhances adipocyte differentiation of 3T3-F442A cells. *Am J Physiol.* 1993 Jun;264(6 Pt 1):C1600-8.
- Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, et al.** Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes.* 2001; 50(10):2199-202.
- Sawaya AL.** Desnutrição: conseqüências em longo prazo e efeitos da recuperação nutricional. *Estudos Avançados.* 2006; 20 (58): 147-158.
- Sawaya AL, Roberts S** Stunting and the Future Risk of Obesity: principal physiological mechanisms. *Cad. Saúde Pública.* 2003; 19 (Supl. 1): S21-S28.
- Schaid DJ, Sommer SS.** Comparison of statistics for candidate-gene associate studies using genes and parents. *Am J Hum Genet* 1994; 55:402-409.
- Schaid DJ, Sommer SS.** Genotype relative risks: methods for design and analysis of candidate-gene association studies. *Am J Hum Genet* 1993; 53:1114-1125.
- Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D Jr.** Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med.* 1996; 2(5):589-93.

- Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG.** Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000; 404(6778):661-71. Review.
- Shintani M, Ikegami H, Yamato E, Kawaguchi Y, et al.** A novel microsatellite polymorphism in the human OB gene: a highly polymorphic marker for linkage analysis. *Diabetologia*. 1996; 39(11):1398-401.
- Shuldiner AR, Yang R, Gong DW.** Resistin, obesity and insulin resistance--the emerging role of the adipocyte as an endocrine organ. *N Engl J Med*. 2001; 345(18):1345-6. Review.
- Silva HP.** 2001. Growth, development, nutrition and health in caboclo populations from the Brazilian Amazon. PhD, Ohio State University.
- Silva HP.** 2006. Sócio-ecologia da Saúde e Doença: os efeitos da invisibilidade nas populações caboclas da Amazônia. In: Adams, C., Murrieta R.S.S. & Neves, W. A., *Sociedades Caboclas Amazônicas: modernidade e invisibilidade*. São Paulo: Anablume. pp. 323-349.
- Silver K, Walston J, Chung WK, et al.** The Gln223Arg and Lys656Asn polymorphisms in the human leptin receptor do not associate with traits related to obesity. *Diabetes* 1997; 46:1898-900.
- Simon I, Vendrell J, Gutierrez C, et al.** Pro12Ala substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is associated with increased leptin levels in women with type-2 diabetes mellitus. *Horm Res*. 2002; 58:143-149.
- Smith AJ, Cooper JA, Li LK, Humphries SE.** INSIG2 gene polymorphism is not associated with obesity in Caucasian, Afro-Caribbean and Indian subjects. *Int J Obes*. 2007; 31(11):1753-5.
- Smith SR, Bai F, Charbonneau C, et al.** A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes* 2003; 52:1611-1618
- Sørensen TI.** The genetics of obesity. *Metabolism*. 1995; 44(9 Suppl 3):4-6. Review.
- Souza SC, de Vargas LM, Yamamoto MT, Lien P, Franciosa MD, Moss LG, Greenberg AS.** Overexpression of perilipin A and B blocks the ability of tumor necrosis factor alpha to increase lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*. 1999; 81; 273(38):24665-9.
- Souza SC, Muliro KV, Liscum L, Lien P, et al.** Modulation of hormone-sensitive lipase and protein kinase A-mediated lipolysis by perilipin A in an adenoviral reconstituted system. *J Biol Chem*. 2002; 277(10):8267-72.
- Spiegelman BM, Flier JS.** Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*. 2001; 104(4):531-43. Review.
- Spiegelman BM.** PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*. 1998 Apr;47(4):507-14. Review.
- Spielman RS, Ewens WJ.** A sibship test for linkage in the presence of association: the sib transmission/disequilibrium test. *Am J Hum Genet*. 1998; 62:450-458.
- Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ.** Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet*. 1993; 52(3):506-516.
- Stefan M., Nicholls R.D.** What have rare genetic syndromes taught us about the pathophysiology of the common forms of obesity? *Curr. Diab. Rep*. 2004; 4:143-150.

- Stefan N, Vozarova B, Del Parigi A, et al.** The Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor in Pima Indians: influence on energy expenditure, physical activity and lipid metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002; 26:1629–32.
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, et al.** The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001b. Jan 18;409(6818):307-12.
- Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, et al.** A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001a; 98(2):502-6.
- Strosberg A.D., Issad T.** The involvement of leptin in humans revealed by mutations in leptin and leptin receptor genes. *Trends Pharmacol. Sci.* 1999; 20:227–230.
- Stunkard A Harris J, Pedersen N, McClearn.** The body-mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med* 1990; 322: 1483-87.
- Stunkard AJ, Sorensen T, Hanis C.** An adoption study of human obesity. *N Engl J Med* 1986; 314: 193-98.
- Swarbrick MM, Chapman CM, McQuillan BM, et al.** A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. *Eur. J. Endocrinol.* 2001; 144:277-282.
- Sztalryd C, Xu G, Dorward H, Tansey JT, Contreras JA, et al.** Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation. *J Cell Biol.* 2003 Jun 23;161(6):1093-103. Erratum in: *J Cell Biol.* 2003 Jul 21;162(2):353.
- Tai ES, Corella D, Deurenberg-Yap M, Adiconis X, Chew SK, Tan CE, Ordovas JM.** Differential effects of the C1431T and Pro12Ala PPARgamma gene variants on plasma lipids and diabetes risk in an Asian population. *J Lipid Res.* 2004; 45(4):674-85.
- Takaishi, K.; Duplomb, L.; Wang, M.-Y.; Li, J.; Unger, R. H.** Hepatic insig-1 or -2 overexpression reduces lipogenesis in obese Zucker diabetic fatty rats and in fasted/refed normal rats. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2004; 101: 7106-7111.
- Tansey JT, Huml AM, Vogt R, Davis KE, Jones JM, Fraser KA, Brasaemle DL, Kimmel AR, Londos C.** Functional studies on native and mutated forms of perilipins. A role in protein kinase A-mediated lipolysis of triacylglycerols. *J Biol Chem.* 2003; 278(10):8401-6.
- Tansey JT, Sztalryd C, Gruia-Gray J, et al.** Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98(11):6494-9.
- Templeman LA, Reynolds GP, Arranz B, San L.** Polymorphisms of the 5-HT2C receptor and leptin genes are associated with antipsychotic drug-induced weight gain in Caucasian subjects with a first-episode psychosis. *Pharmacogenet Genomics.* 2005; 15(4):195-200.
- Thamer C, Haap M, Volk A, et al.** Evidence for greater oxidative substrate Xexibility in male carriers of the Pro12Ala polymorphism in PPARgamma2. *Horm Metab Res.* 2002; 34:132-136.
- Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C.** Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet.* 1997; 6:675–9.
- Uauy R, Albala C, Kain J.** Obesity trends in Latin America: transiting from under- to overweight. *Journal of Nutrition.* 2001; 131: 893S-899S.
- Ukkola O, Kesäniemi YA, Tremblay A, Bouchard C.** Two variants in the resistin gene and the response to long-term overfeeding. *Eur J Clin Nutr.* 2004; 58(4):654-9.

- Ukkola O, Rankinen T, Weisnagel SJ, Sun G, et al.** Interactions among the alpha2-, beta2-, and beta3-adrenergic receptor genes and obesity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *Metabolism*. 2000a; 49(8):1063-70.
- Ukkola O, Tremblay A, Bouchard C.** Beta-2 adrenergic receptor variants are associated with subcutaneous fat accumulation in response to long-term overfeeding. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25(11):1604-8.
- Ukkola O, Tremblay A, Després JP, Chagnon YC, Campfield LA, Bouchard C.** Leptin receptor Gln223Arg variant is associated with a cluster of metabolic abnormalities in response to long-term overfeeding. *J Intern Med*. 2000b; 248(5):435-9.
- Ukkola O.** Resistin - a mediator of obesity-associated insulin resistance or an innocent bystander? *Eur J Endocrinol*. 2002; 147(5):571-4. Review.
- Vaccaro O, Mancini FP, Ruffa G, Sabatino L, Colantuoni V, Riccardi G.** Pro12Ala mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 (PPARgamma2) and severe obesity: a case-control study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000; 24:1195-9.
- Vaccaro O, Mancini FP, Ruffa G, Sabatino L, et al.** Fasting plasma free fatty acid concentrations and Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma2 gene in healthy individuals. *Clin Endocrinol* 2002; 57:481-486.
- Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P.** A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet*. 1998; 20:113- 4.
- Valve R, Sivenius K, Miettinen R, et al.** Two polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene are associated with severe overweight among obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 ;84:3708 -12.
- van Rossum CT, Hoebee B, Seidell JC, et al.** Genetic factors as predictors of weight gain in young adult Dutch men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; 26: 517-28.
- Vicente JP.** Prevalência de toxocaríase em crianças e adolescentes residentes em comunidades de remanescentes de quilombos em São Paulo. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre, Faculdade de Medicina, Departamento de Pediatria, Universidade de São Paulo, 2002.
- Vicente JP.** Prevalência da desnutrição em crianças e adolescentes em comunidades de remanescentes de quilombos no Sudeste do Estado de São Paulo. Tese apresentada para obtenção do Título de Doutor, Faculdade de Medicina, Departamento de Pediatria, Universidade de São Paulo, 2004.
- Vidal-Puig A, Jimenez-Linan M, Lowell BB, et al.** Regulation of PPAR gamma gene expression by nutrition and obesity in rodents. *J Clin Invest*. 1996; 97(11):2553-6.
- Wang H, Chu WS, Hemphill C, Elbein SC.** Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(6):2520-4.
- Wang Y, Sullivan S, Trujillo M, Lee MJ, et al.** Perilipin expression in human adipose tissues: effects of severe obesity, gender, and depot. *Obes Res*. 2003; 11(8):930-6.
- Wauters M, Mertens I, Chagnon M, et al.** Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25:714 -20.
- Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, Uysal KT, et al.** Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem*. 2001; 276(28):25651-3.

WHO – World Health Organization – <http://www.who.int>.

World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity, Geneva, 3 – 5 June 1997. World Health Organization: Geneva, 1998.

Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A, Kourtis A, Kukuvtis A, Panidis D. A polymorphism in the resistin gene promoter is associated with body mass index in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2004; 82:1466-7.

Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci.* 2003; 6(7):736-42.

Yabe D, Komuro R, Liang G, et al. Liver-specific mRNA for Insig-2 down-regulated by insulin: implications for fatty acid synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2003 100: 3155-3160.

Yabe, D.; Brown, M. S.; Goldstein, J. L. Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2002; 99: 12753-12758.

Yamada K, Ishiyama-Shigemoto S, Ichikawa F, et al. Polymorphism in the 5'-leader cistron of the beta2-adrenergic receptor gene associated with obesity and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84:1754 –7.

Yamamoto Y, Hirose H, Miyashita K, et al. PPAR(gamma)2 gene Pro12Ala polymorphism may influence serum level of an adipocyte-derived protein, adiponectin, in the Japanese population. *Metabolism.* 2002; 51:1407-1409.

Yen CJ, Beamer BA, Negri C, Silver K, Brown KA, et al. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 241(2):270-4.

Yeo GS, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, et al. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet.* 1998; 20(2):111-2.

Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, et al. 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. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:4434-9.

Youn BS, Yu KY, Park HJ, Lee NS, Min SS, et al. Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jan;89(1):150-6.

Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M. Leptin receptor gene variation predicts weight change in subjects with impaired glucose tolerance. *Obes Res.* 2005; 13(3):501-6.

Zhang HH, Souza SC, Muliro KV, Kraemer FB, Obin MS, Greenberg AS. Lipase-selective functional domains of perilipin A differentially regulate constitutive and protein kinase A-stimulated lipolysis. *J Biol Chem.* 2003; 278(51):51535-42.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372(6505):425-32. Erratum in: *Nature* 1995; 374(6521):479.

Zhu Y, Qi C, Korenberg JR, Chen XN, Noya D, et al. Structural organization of mouse peroxisome proliferator-activated receptor gamma (mPPAR gamma) gene: alternative promoter use and different splicing yield two mPPAR gamma isoforms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995; 92(17):7921-5.

Zietz B, Barth N, Spiegel D, Schmitz G, Scholmerich J, SchaZer A. Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferatoractivated receptor-gamma2 (PPAR δ 2) is associated with higher levels of total cholesterol and LDL-cholesterol in male Caucasian type 2 diabetes patients. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2002; 110:60–66.