



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Letícia de Oliveira Souza Bratti

**Avaliação de desfecho clínico/laboratorial após intervenção cirúrgica em  
pacientes com obesidade grave: Parâmetros genético/metabólicos**

Florianópolis

2023

Letícia de Oliveira Souza Bratti

**Avaliação de desfecho clínico/laboratorial após intervenção cirúrgica em  
pacientes com obesidade grave: Parâmetros genético/metabólicos**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Farmácia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Fabíola Branco Filippin Monteiro, Dr<sup>a</sup>

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Ana Carolina Rabello de Moraes, Dr<sup>a</sup>

Florianópolis

2023

Bratti, Letícia de Oliveira Souza

Avaliação de desfecho clínico/laboratorial após intervenção cirúrgica em pacientes com obesidade grave: Parâmetros genético/metabólicos / Letícia de Oliveira Souza Bratti ; orientador, Fabíola Branco Filippin-Monteiro, coorientador, Ana Carolina Rabello de Moraes, 2023.

218 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. obesidade. 3. cirurgia bariátrica. 4. risco cardiovascular. 5. hiperparatireoidismo. I. Filippin-Monteiro, Fabíola Branco . II. de Moraes, Ana Carolina Rabello . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

Letícia de Oliveira Souza Bratti

**Avaliação de desfecho clínico/laboratorial após intervenção cirúrgica em pacientes com obesidade grave: Parâmetros genético/metabólicos**

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 18 de dezembro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Beatriz Garcia Mendes Borba, Dr<sup>a</sup>  
Universidade Federal de Santa Catarina

Ziliani da Silva Buss, Dr<sup>a</sup>  
Universidade Federal de Santa Catarina

Eduardo Benedetti Parisotto, Dr  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Farmácia.

Fabíola Branco Filippin Monteiro, Dr<sup>a</sup>  
Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia

Fabíola Branco Filippin Monteiro, Dr<sup>a</sup>  
Orientadora

Florianópolis, 2023.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha orientadora, professora Fabíola Branco Filippin Monteiro, pela oportunidade de realizar esse trabalho e por seu apoio, dedicação e todo conhecimento e suporte durante essa jornada.

A minha coorientadora, professora Ana Carolina Rabello de Moraes, que esteve presente em todas as etapas da minha formação e contribuiu muito com o meu crescimento acadêmico.

Aos meus pais e à minha irmã, pelo amor, incentivo e por permanecerem ao meu lado em todos os momentos.

Ao meu companheiro de vida, Nilton, pela parceria e paciência. Obrigada por me fazer acreditar que posso mais que imagino.

A todos os colegas do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina (ACL/UFSC) pela compreensão, amizade e apoio nesta jornada. Especialmente às minhas colegas e amigas Paula, Cris, Jenny e Giu; que compartilharam boa parte desse período e cobriram meu trabalho nos momentos de ausência para que eu pudesse desenvolver essa tese.

A todos os colegas dos grupos LAITA, GEIMM e LAPI por terem me auxiliado nos experimentos, além de dividir comigo as angústias e alegrias desse período. Em especial ao Bruno, Carol, Paula, Tainá, Veridiana, Ana Carolina e Vini.

Aos colaboradores, pela ajuda e parceria na coleta e análise dos dados.

A todos os voluntários e pacientes da cirurgia bariátrica do Hospital Universitário que participaram espontaneamente deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, agradeço pela disponibilidade em avaliar meu trabalho.

Ao programa de pós-graduação em farmácia (PPGFar) por ter me proporcionado a realização deste trabalho.

## RESUMO

A obesidade e o sobrepeso estão fortemente associados a doenças cardiovasculares e a deficiências de micronutrientes, como a vitamina D, mesmo após cirurgia bariátrica, um procedimento que tem se destacado como uma estratégia eficaz para a perda de peso em casos graves. Além disso, nos últimos anos, a busca pelo entendimento da fisiopatologia da obesidade tem sido intensa, especialmente no que diz respeito aos sinais de saciedade no hipotálamo e em regiões cerebrais associadas à sinalização hormonal em neurônios orexígenos e anorexígenos. Tais sinais são complexos e frequentemente associados à regulação do gasto energético e sensações de fome e saciedade. No entanto, diferentes fenótipos resultam de variantes alélicas nos genes que codificam essas proteínas. Objetivos: Investigar o risco de eventos cardiovasculares e avaliar o metabolismo da vitamina D e as deficiências de micronutrientes associadas em indivíduos que perderam peso por cirurgia bariátrica. Além disso, buscar variantes alélicas e identificar genes centrais relacionados à obesidade que possam explicar os diferentes fenótipos de sobrepeso/obesidade para auxiliar no entendimento das diversas proteínas envolvidas. Métodos: Uma análise de 25(OH)D, PTH, cálcio, glicose, insulina, TG, HDL-C, não-HDL-C, proporções de lipoproteínas e marcadores inflamatórios foi realizada em pacientes com obesidade antes e após a cirurgia bariátrica. O uso de medicamentos foi examinado e os resultados entre diferentes técnicas cirúrgicas foram comparados. Além disso, um estudo para avaliar a inflamação endotelial *in vitro* e uma análise *in silico* de genes centrais envolvidos na gênese da obesidade foram realizados. Resultados: Foi observada melhora metabólica notável, associada à redução do IMC e à diminuição do uso de diversos medicamentos após a cirurgia. A gastrectomia vertical apresentou vantagens potenciais na prevenção de deficiências de micronutrientes em comparação com a cirurgia disabsortiva. Uma proporção considerável de indivíduos apresentou valores baixos de vitamina D e elevados de PTH no período pré-operatório. A análise de correlação revelou que, entre aqueles com PTH pré-operatório superior a 70 pg/mL, valores mais elevados de PTH foram associados a menor perda de peso. Quanto ao metabolismo de lipoproteínas, as concentrações de HDL-C e os índices aterogênicos indicaram um aumento acentuado do risco de eventos cardiovasculares no primeiro mês após o procedimento cirúrgico. No estudo *in vitro*, componentes inflamatórios, insulina e o soro de indivíduos com obesidade foram capazes de provocar estresse endotelial, avaliado pelo aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias. Na análise *in silico*, a busca inicial foi realizada no banco de dados ClinVar recuperando 468 variantes genéticas potenciais associadas com a obesidade. Após descartar manualmente variantes não relacionadas e selecionar apenas as classificadas como patogênicas, foram selecionadas 20 variantes em 7 genes para análise posterior. Após serem submetidas a ferramentas de predição *in silico*, 16 potenciais variantes patogênicas foram pesquisadas em bancos de dados brasileiros e 4 foram encontradas: L72M e R51Q no gene GHRL, R70W no gene UCP3 e T150I no gene MC4R. Conclusão: Indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica apresentam maior risco de eventos cardiovasculares no pós-operatório imediato e podem ter a saúde óssea comprometida a longo prazo. Portanto, o risco cardiovascular e o hiperparatireoidismo secundário devem ser melhor avaliados antes da cirurgia e melhor monitorados após o procedimento. No estudo *in silico*, os nsSNPs avaliados mostraram efeitos importantes na estrutura da proteína e requerem validação adicional para confirmar os papéis patogênicos nas doenças relacionadas.

**Palavras-chave:** obesidade; cirurgia bariátrica; risco cardiovascular; vitamina D; hiperparatireoidismo; variantes; UCP3; MC4R; GHRL; *in silico*.

## ABSTRACT

Obesity and overweight are strongly associated with cardiovascular diseases and micronutrient deficiencies, such as vitamin D, even after bariatric surgery, a procedure that has emerged as an effective strategy for weight loss in severe cases. Additionally, in recent years, there has been an intense pursuit of understanding the pathophysiology of obesity, particularly concerning satiety signals in the hypothalamus and brain regions associated with hormonal signaling in orexigenic and anorexigenic neurons. These signals are complex and often linked to the regulation of energy expenditure and feelings of hunger and satiety. However, different phenotypes result from allelic variants in genes encoding these proteins. Objectives: To investigate the risk of cardiovascular events and assess the metabolism of vitamin D and associated micronutrient deficiencies in individuals who have lost weight through bariatric surgery. Additionally, to explore allelic variants and identify central genes related to obesity that may explain different overweight/obesity phenotypes to aid in understanding the various proteins involved. Methods: An analysis of 25(OH)D, PTH, calcium, glucose, insulin, TG, HDL-C, non-HDL-C, lipoprotein ratios, and inflammatory markers was conducted in obese patients before and after bariatric surgery. Medication use was examined, and results between different surgical techniques were compared. Additionally, a study to evaluate in vitro endothelial inflammation and an in-silico analysis of central genes involved in obesity genesis were performed. Results: A significant metabolic improvement was observed, associated with a reduction in BMI and decreased use of various medications after surgery. Vertical gastrectomy showed potential advantages in preventing micronutrient deficiencies compared to malabsorptive surgery. A considerable proportion of individuals had low vitamin D and high PTH levels preoperatively. Correlation analysis revealed that among those with preoperative PTH levels above 70 pg/mL, higher PTH levels were associated with less weight loss. Regarding lipoprotein metabolism, concentrations of HDL-C and atherogenic indices indicated a pronounced increase in the risk of cardiovascular events in the first month after surgical procedures. In the in vitro study, inflammatory components, insulin, and serum from individuals with obesity induced endothelial stress, assessed by an increase in pro-inflammatory cytokine concentrations. In the in-silico analysis, the initial search was conducted in the ClinVar database, retrieving 468 potential genetic variants associated with obesity. After manually discarding unrelated variants and selecting only those classified as pathogenic, 20 variants in 7 genes were chosen for further analysis. After undergoing in silico prediction tools, 16 potential pathogenic variants were researched in Brazilian databases, and 4 were found: L72M and R51Q in the GHRL gene, R70W in the UCP3 gene, and T150I in the MC4R gene. Conclusion: Individuals undergoing bariatric surgery present a higher risk of cardiovascular events in the immediate postoperative period and may have compromised bone health in the long term. Therefore, cardiovascular risk and secondary hyperparathyroidism should be better assessed before surgery and more closely monitored after the procedure. In the in-silico study, the evaluated nsSNPs showed significant effects on protein structure and require additional validation to confirm their pathogenic roles in related diseases.

**Keywords:** obesity; bariatric surgery; cardiovascular risk; vitamin D; hyperparathyroidism; variants; UCP3; MC4R; GHRL; in-silico.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - IMC, 25(OH)D, cálcio e PTH após cirurgia bariátrica.....	50
Figura 2 - Concentrações de 25(OH)D nos grupos BGYR e SG.....	51
Figura 3 - Concentrações de PTH nos grupos BGYR e SG.....	52
Figura 4 - Concentrações de PTH pré-operatório e perda de peso.....	54
Figura 5 - Avaliação dos perfis lipídico e glicêmico. ....	75
Figura 6 - Percentual de indivíduos com concentrações de HDL-C acima e abaixo do valor de referência (>40 mg/dL). ....	76
Figura 7 - Micrografias ópticas de células da linhagem HUVEC 24 horas após tratamento com diferentes meios. ....	77
Figura 8 - Avaliação de marcadores inflamatórios no sobrenadante de células da linhagem HUVEC 24 horas após tratamento com diferentes meios enriquecidos. ...	78
Figura 9 - Efeito de diferentes meios no potencial de membrana mitocondrial de células da linhagem HUVEC. ....	79
Figura 10 - Avaliação dos perfis lipídico e inflamatório após 12 meses. ....	80
Figura 11 - Tamanho de partícula da HDL em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica.....	81
Figura 12 - Metodologia computacional utilizada para as análises funcionais de nsSNPs. ....	109
Figura 13 - Ilustração do processo de refinamento de dados. ....	113



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da população do estudoantes da intervenção cirúrgica...	48
Tabela 2 - Análise de participantes com PTH elevado.....	53
Tabela 3 - Análise de participantes com baixas concentrações de 25(OH)D.....	53
Tabela 4 - IMC e perfis lipídico e glicêmico.....	73

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Resultados de predição de nsSNPs por oito softwares de predição. ....	115
Quadro 2 - Análise da plataforma HOPE. ....	118
Quadro 3 - Estudos envolvendo a variante R70W do gene UCP3 (rs17848368). ....	120
Quadro 4 - Estudos envolvendo a variante T150I do gene MC4R (rs766665118). .	120
Quadro 5 - Estudos envolvendo a variante R51Q do gene GHRL (rs34911341). ....	122
Quadro 6 - Estudos envolvendo a variante L72M do gene GHRL (rs696217). ....	124

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH)<sub>2</sub>D 1,25 diidroxí-vitamina D

25(OH)D 25-hidroxívitamina D

ABCA-1 do inglês, ATP-binding cassette transporter A1

ABESO Sociedade Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica

ACAT acilcolesterol aciltransferase

AG ácidos graxos

AGNE ácidos graxos não esterificados

apo B48 apolipoproteína B48

apoA1 apolipoproteína A1

apoAII apolipoproteína AII

apoB100 apolipoproteína B100

apoE apolipoproteína E

ATC sistema de classificação anatômico-terapêutico-químico

ATP do inglês, Adult Treatment Panel

BGYR bypass gástrico em Y de Roux

CaSR receptor sensível ao cálcio

CETP proteína de transferência de ésteres de colesterol

CID-10 Classificação Internacional de Doenças

COVID-19 do inglês, Coronavirus Disease 2019

CYPs enzimas do citocromo P450

DBP proteína de ligação à vitamina D

DLS do inglês, dynamic light scattering

DM2 diabetes mellitus tipo 2

DNT doenças não transmissíveis

ELISA ensaio imunoenzimático

EMA do inglês, European Medicines Agency

eNOS óxido nítrico sintase endotelial

EROs espécies reativas de oxigênio

FDA do inglês, Food and Drug Administration  
FGF23 fator de crescimento de fibroblastos 23  
GABA ácido gama-aminobutírico  
GLP-1 peptídeo semelhante ao glucagon 1  
HDL lipoproteína de alta densidade  
HDL-C colesterol de lipoproteína de alta densidade  
HMG-CoA 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA  
HUVEC células endoteliais da veia umbilical humana  
ICAM-1 molécula de adesão intercelular-1  
IDL lipoproteína de densidade intermediária  
IL-10 interleucina 10  
IL-1Ra antagonista do receptor de IL-1  
IL-4interleucina 4  
IL-6 interleucina 6  
IMC índice de massa corporal  
iNOS óxido nítrico sintase induzível  
IFN- $\gamma$  interferon gamma  
LCAT lecitina-colesterol-acil transferase  
LDL lipoproteína de baixa densidade  
LDL-C colesterol de lipoproteína de baixa densidade  
LEPR receptor de leptina  
Lp(a) lipoproteína (a)  
LPL lipoproteína lipase  
MC4R receptor de melanocortina-4  
MCP-1 proteína quimiotática de monócitos  
MPO mieloperoxidase  
NADPH nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato  
NF- $\kappa$ B fator nuclear kappa B  
NO óxido nítrico  
NOS óxido nítrico sintase

NOx metabólitos do óxido nítrico

OMS organização mundial da saúde

PAF-AH acetil hidrolase do fator de plaquetas

PCR proteína C reativa

PCSK1 proproteína convertase subtilisina/kexina tipo 1

PdI índice de polidispersão

POMC proopiomelanocortina

PON1 paraoxonase-1

PPAR receptor ativado por proliferadores de peroxissoma

PTH hormônio da paratireoide

PTH1R receptor do hormônio da paratireoide 1

PTHrP peptídeo relacionado ao PTH

QM quilomícrom

RHX receptores hepáticos X

RXR receptores hepáticos de retinóides

SAA proteína amiloide sérica A

SBEM Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabolismo

SFB soro fetal bovino

SG gastrectomia vertical

TCLE termo de consentimento livre e esclarecido

TG triglicerídeos

TGF $\beta$  fator transformador de crescimento beta

TNF- $\alpha$  fator de necrose tumoral alfa

UCP do inglês, uncoupling protein

UVB ultravioletas do tipo B

VCAM-1 molécula de adesão celular vascular-1

VDR receptor de vitamina D

VLDL lipoproteína de densidade muito baixa

$\alpha$ -MSH hormônio estimulante alfa-melanócito

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1	OBESIDADE .....	16
1.2	TECIDO ADIPOSEO.....	18
1.3	INFLAMAÇÃO E OBESIDADE .....	20
1.4	TRATAMENTOS DA OBESIDADE .....	22
<b>1.4.1</b>	<b>Cirurgia bariátrica.....</b>	<b>28</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>32</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	32
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I - Impacto da cirurgia bariátrica no metabolismo da vitamina D e nas deficiências de micronutrientes na obesidade grave.....</b>	<b>33</b>
3.1	REVISÃO DA LITERATURA .....	33
<b>3.1.2</b>	<b>Vitamina D.....</b>	<b>34</b>
3.1.2.1	Formas de Vitamina D.....	36
3.1.2.1	Produção cutânea de vitamina D .....	37
<b>3.1.3</b>	<b>O metabolismo da vitamina D .....</b>	<b>38</b>
3.1.3.1	Fase hepática .....	38
3.1.3.2	Fase renal .....	39
<b>3.1.4</b>	<b>PTH .....</b>	<b>41</b>
3.1.4.1	Hiperparatireoidismo .....	43
<b>3.1.5</b>	<b>Vitamina D, PTH e obesidade .....</b>	<b>44</b>
3.2	METODOLOGIA.....	46
<b>3.2.1</b>	<b>Seleção de participantes .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Coleta de dados e obtenção de soro .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Uso de medicamentos .....</b>	<b>47</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Análise estatística .....</b>	<b>47</b>
3.3	RESULTADOS .....	48
<b>3.3.1</b>	<b>Características individuais e resultados clínicos.....</b>	<b>48</b>
<b>3.3.2</b>	<b>IMC, 25(OH)D, cálcio e PTH .....</b>	<b>49</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Comparação de técnicas cirúrgicas .....</b>	<b>50</b>
<b>3.3.4</b>	<b>Análise de PTH elevado e 25(OH)D diminuída.....</b>	<b>52</b>
3.4	DISCUSSÃO .....	55

<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO DE RISCO CARDIOVASCULAR NO PÓS-OPERATÓRIO IMEDIATO DE CIRURGIA BARIÁTRICA</b> .....	<b>59</b>
4.1	REVISÃO DA LITERATURA.....	59
<b>4.1.2</b>	<b>Lipoproteínas e metabolismo lipídico</b> .....	<b>61</b>
4.1.2.1	Tamanho e subfrações HDL.....	65
4.2	METODOLOGIA.....	68
<b>4.2.1</b>	<b>Seleção de participantes</b> .....	<b>68</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Coleta de dados e obtenção de soro</b> .....	<b>68</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Determinações de parâmetros bioquímicos</b> .....	<b>68</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Cultura celular</b> .....	<b>69</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Determinação de TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, MCP-1, IFN-<math>\gamma</math> e IL-10</b> .....	<b>69</b>
<b>4.2.6</b>	<b>Determinação de metabólitos do óxido nítrico (NOx)</b> .....	<b>69</b>
<b>4.2.7</b>	<b>Determinação do Potencial de Membrana Mitocondrial</b> .....	<b>70</b>
<b>4.2.8</b>	<b>Determinação do tamanho de HDL</b> .....	<b>71</b>
<b>4.2.9</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>71</b>
4.3	RESULTADOS .....	73
<b>4.3.1</b>	<b>Características dos indivíduos</b> .....	<b>73</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Perfil lipídico e glicêmico</b> .....	<b>73</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Avaliação da inflamação in vitro</b> .....	<b>76</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Perfis lipídico e inflamatório 12 meses após o procedimento</b> .....	<b>79</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Tamanho de HDL</b> .....	<b>80</b>
4.4	DISCUSSÃO .....	82
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO III - Abordagem <i>in silico</i> para identificar variantes missense não sinônimas em genes humanos relacionados à obesidade: análises em variantes relatadas em bancos de dados brasileiros</b> .....	<b>91</b>
5.1	REVISÃO DA LITERATURA .....	91
<b>5.1.1</b>	<b>Genética da obesidade</b> .....	<b>92</b>
5.1.1.1	Regulação neuroendócrina da ingestão alimentar .....	94
5.1.1.2	Obesidade Monogênica.....	97
5.1.1.3	Obesidade Poligênica.....	100
<b>5.1.2</b>	<b>Termos e definições genéticas</b> .....	<b>103</b>
5.1.2.1	Variantes .....	103
5.1.2.2	Bancos de dados genéticos .....	105
5.1.2.3	Ferramentas de bioinformática.....	107
<b>5.1.3</b>	<b>Variantes genéticas em diferentes ancestralidades</b> .....	<b>108</b>
5.2	METODOLOGIA.....	109

5.2.1	Curadoria de conjuntos de dados de variantes <i>missense</i> .....	109
5.2.2	Predição de nsSNPs.....	110
5.2.3	Análise de bioinformática utilizando a plataforma HOPE.....	111
5.2.4	Bases de dados brasileiras .....	112
5.3	RESULTADOS .....	113
5.3.1	Seleção de variantes <i>missense</i> e análise de predição.....	113
5.3.2	Análise bioquímica e de conservação.....	116
5.3.3	Análise de bancos de dados brasileiros .....	120
5.4	DISCUSSÃO .....	133
6	CONCLUSÕES .....	136
7	PERSPECTIVAS.....	138
	REFERÊNCIAS.....	139
	APÊNDICE A .....	180
	APÊNDICE B .....	181
	APÊNDICE C .....	203
	APÊNDICE D .....	208
	APÊNDICE E .....	210
	ANEXO 1.....	212
	ANEXO 2.....	217



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 OBESIDADE

A obesidade consiste no acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo e representa um enorme desafio para a saúde pública, pois aumenta substancialmente o risco de desenvolvimento de doenças não transmissíveis (DNT). Essas incluem principalmente doenças metabólicas, como diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e doença hepática gordurosa; doenças cardiovasculares, como hipertensão e doenças coronarianas; mas também condições como demência, doença de Alzheimer, depressão e diversos tipos de câncer. Com um efeito comparável ao do tabagismo, a expectativa de vida das pessoas com índice de massa corporal (IMC) entre 40 e 45 kg/m<sup>2</sup> pode ser reduzida em oito a dez anos. Para cada aumento de 5 kg/m<sup>2</sup> no IMC, a mortalidade geral aumenta 29% (Whitlock *et al.*, 2009). A obesidade está associada a um risco de cinco a 15 vezes maior de desenvolver DM2 ou doenças cardiovasculares (Kivimäki *et al.*, 2017). Problemas mecânicos decorrentes do aumento substancial de peso, como osteoartrite e apneia do sono, também afetam a qualidade de vida das pessoas (Afshin *et al.*, 2017). O impacto da obesidade em doenças transmissíveis, em particular infecções virais, foi recentemente destacado pela descoberta de que indivíduos com obesidade correm maior risco de hospitalização e doença grave por COVID-19 (do inglês, *Coronavirus Disease 2019*) (Zhao *et al.*, 2020).

Uma preocupação adicional para as pessoas com obesidade é o estigma social, que envolve preconceito ou comportamentos discriminatórios. Inclusive, na maior Classificação Internacional de Doenças (CID-10), há uma classificação com o código E66.0 relatada como “Obesidade devida a excesso de calorias”, o que pode ser considerado uma estigmatização da doença, uma vez que não leva em consideração toda a complexidade envolvida no desenvolvimento da obesidade. Esse estigma pode resultar em comportamentos obesogênicos adicionais, como compulsão alimentar e aumento do consumo de alimentos (WHO, 2010; Tomiyama *et al.*, 2018). Ainda, a obesidade também está associada ao desemprego, desvantagens sociais e redução da produtividade socioeconômica, criando assim um fardo econômico cada vez maior. Indivíduos portadores de obesidade tem uma diminuição considerável na qualidade e expectativa de vida. Estima-se que a

obesidade possa diminuir a expectativa de vida em até 20 anos, dependendo das comorbidades e da gravidade da condição (Whitlock *et al.*, 2009; Berrington de Gonzalez *et al.*, 2010; WHO, 2023).

Dados sobre a obesidade global revelaram que, em 2016, aproximadamente 39% dos adultos estavam acima do peso e 13% eram portadores de obesidade. A prevalência da obesidade aumentou progressivamente nas últimas décadas e praticamente triplicou nos últimos 30 anos, atingindo proporções pandêmicas. Cerca de 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano em decorrência das doenças associadas ao sobrepeso ou obesidade. A prevalência da obesidade também está aumentando acentuadamente em países de baixa e média renda. Se essas tendências continuarem, em 2025 a prevalência global de obesidade poderá atingir 18% nos homens e ultrapassar 21% nas mulheres; e a obesidade grave pode ultrapassar 6% em homens e 9% em mulheres (NCD-RISC, 2016; WHO, 2023).

Apesar das limitações dessa métrica, a classificação da obesidade é baseada no IMC, um índice estatístico que usa o peso e a altura de uma pessoa para fornecer uma estimativa da gordura corporal em homens e mulheres de qualquer idade. O IMC corresponde a uma razão simples entre massa do indivíduo em quilogramas e sua altura em metros ao quadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). De acordo com a OMS, o IMC é uma maneira simples que permite classificar rapidamente se um indivíduo adulto tem baixo peso, peso normal ou excesso de peso e por esse motivo foi adotado internacionalmente para classificar a obesidade. Essa classificação considera que indivíduos com IMC menor que  $18,5 \text{ kg}/\text{m}^2$  estão abaixo do peso; aqueles com IMC entre  $18,5$  e  $24,9 \text{ kg}/\text{m}^2$  são considerados com peso normal e aqueles com IMC entre  $25$  e  $29,9 \text{ kg}/\text{m}^2$  são considerados com sobrepeso. Indivíduos com IMC igual ou acima de  $30 \text{ kg}/\text{m}^2$  são considerados portadores de obesidade. A obesidade pode ser classificada em três graus: o grau 1 compreende os indivíduos que apresentam IMC entre  $30$  e  $34,9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ; o grau 2, aqueles com IMC entre  $35$  e  $39,9 \text{ kg}/\text{m}^2$ , e o grau 3, aqueles que apresentam IMC maior ou igual a  $40 \text{ kg}/\text{m}^2$ . A obesidade grau 3 é comumente chamada de obesidade "grave" (WHO, 2000).

Embora exista uma boa correlação entre o IMC e a massa de gordura corporal, essa classificação do estado nutricional independe do gênero e idade do indivíduo e não considera a variação da distribuição corporal da gordura, podendo não corresponder ao mesmo grau de obesidade ou riscos associados em diferentes

indivíduos e populações. Em alguns casos, como em atletas elite e fisiculturistas ou indivíduos com edemas e ascite, o IMC não é uma determinação fiel da obesidade, pois não permite distinguir a causa do excesso de peso. Nesses casos, um IMC elevado não se correlaciona diretamente com o estado de saúde devido ao aumento da massa muscular e do peso, aumentando falsamente o IMC. Sendo assim, embora na maioria dos casos se possa assumir que indivíduos com  $\text{IMC} \geq 30$  têm excesso de gordura, a OMS aconselha que os valores de IMC sejam interpretados com cautela (WHO, 2000; Hales *et al.*, 2018).

## 1.2 TECIDO ADIPOSEO

O tecido adiposo é uma estrutura complexa composta principalmente por células responsáveis por armazenar lipídios na forma de triglicerídeos (TG), os adipócitos. Além dos adipócitos, várias outras células e estruturas compõem o tecido adiposo. Alguns exemplos são os pré-adipócitos e células tronco mesenquimais, que são células indiferenciadas, os fibroblastos, que produzem a matriz extracelular responsável pelo suporte mecânico do tecido, os vasos sanguíneos, que agem promovendo o fluxo de nutrientes, oxigênio e de citocinas e hormônios produzidos pelo tecido, além dos macrófagos e linfócitos T, que são capazes de determinar o estado imune do tecido adiposo. As estruturas e células adjacentes aos adipócitos compõem a chamada fração vascular estromal do tecido adiposo (OUCHI *et al.*, 2011; Minter; Marra; Rubin, 2013).

De maneira genérica, existem dois diferentes tipos de gordura na constituição do tecido adiposo, diferenciando esse tecido em tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom. Nas áreas onde é composto principalmente por adipócitos brancos é chamado de tecido adiposo branco e onde os adipócitos marrons são predominantes é chamado de tecido adiposo marrom. O tecido adiposo branco é o mais abundante em mamíferos e é armazenado em dois depósitos distintos, o tecido adiposo subcutâneo, localizado imediatamente abaixo da pele e o tecido adiposo visceral, localizado principalmente na cavidade abdominal e dentro do tórax. Já o tecido adiposo marrom é encontrado principalmente em recém-nascidos e animais em hibernação. Esse tecido diminui significativamente após a infância e representa uma proporção menor que 3% dos depósitos totais de gordura em humanos adultos e está localizado principalmente nas regiões supraclavicular e cervical, mas também

é encontrado nas regiões abdominal, paraespinal, mediastinal e axilar (Enerbäck, 2009; Becher *et al.*, 2021; Cypess, 2022).

Os adipócitos brancos são caracterizados por sua capacidade de armazenar e liberar energia na forma de lipídios como uma grande gota lipídica unilocular no citoplasma. O tecido adiposo branco é o mais abundante e é responsável principalmente por armazenar lipídios e possui características endócrinas, uma vez que secreta inúmeros hormônios e citocinas (Sarmiento-Cabral *et al.*, 2017). Já os adipócitos marrons são caracterizados pela presença de alto conteúdo de mitocôndrias e várias pequenas gotículas lipídicas no citoplasma. O tecido adiposo marrom desempenha um papel importante na respiração celular, através das proteínas desacopladoras (do inglês UCP, *uncoupling protein*) presentes em suas mitocôndrias. O tecido adiposo marrom também está envolvido na termogênese, a geração de calor via oxidação de lipídios, e está relacionado à promoção da perda de peso (Cannon; Nedergaard, 2004). Já foi demonstrada uma tendência de menor atividade do tecido adiposo marrom com o acúmulo de gordura corporal (Yoneshiro *et al.*, 2011).

O órgão adiposo possui grande capacidade de plasticidade. Os adipócitos brancos podem se diferenciar em adipócitos semelhantes a marrons no tecido adiposo branco. Os adipócitos marrons diferenciados no tecido adiposo branco também são identificados como *brite* (do inglês, *brown in white*) ou bege. Os adipócitos bege são caracterizados por sua morfologia de gotículas lipídicas multiloculares, alto número de mitocôndrias e pela expressão de genes de adipócitos marrons, como UCP-1. Esses adipócitos podem expressar UCP-1 e são originados no tecido adiposo branco em resposta a vários estímulos. Por exemplo, grandes adipócitos brancos uniloculares podem se diferenciar em adipócitos bege em resposta ao frio ou agonistas  $\beta$ 3-adrenérgicos. No entanto, em estudos com animais, os adipócitos bege diferenciados perderam a expressão de UCP-1 depois que os camundongos foram movidos de volta para condições mais quentes, demonstrando que o perfil termogênico dos adipócitos bege é reversível (Rosenwald *et al.*, 2013; Harms; Seale, 2013; Chu; Gawronska-Kozak, 2017).

Um quarto tipo de adipócitos foi descrito; os adipócitos rosa. Os adipócitos rosa são células alveolares secretoras de leite que podem surgir da transdiferenciação de adipócitos brancos durante a gravidez e lactação. Essas células são caracterizadas por abundantes gotículas lipídicas citoplasmáticas,

superfície apical com microvilosidades, núcleo grande e arredondado e um robusto retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi e grânulos contendo leite. Como o órgão adiposo adquire uma cor rosa durante a gravidez e lactação, essas células glandulares epiteliais foram denominadas adipócitos rosados. Evidências têm apoiado a hipótese de transdiferenciação branco para rosa, transdiferenciação rosa para marrom e conversão reversível de células marrom para mioepiteliais, demonstrando mais uma vez a intensa plasticidade característica do órgão adiposo (Giordano *et al.*, 2014; Cinti, 2018).

### 1.3 INFLAMAÇÃO E OBESIDADE

Em 1993, Hotamisligil e colaboradores relataram que adipócitos de roedores obesos foram capazes de secretar fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), demonstrando pela primeira vez a associação existente entre obesidade e inflamação (Hotamisligil; Shargill; Spiegelman, 1993). Dez anos depois, Weisberg e colaboradores associaram a obesidade a um acúmulo de macrófagos no tecido adiposo, confirmando a associação da obesidade a um estado inflamatório (Weisberg *et al.*, 2003). Atualmente é bem estabelecido que a inflamação na obesidade é sistêmica, crônica e de baixo grau. Os macrófagos são as células imunes inatas mais abundantes que se infiltram e se acumulam no tecido adiposo branco, constituindo até 40–50% de todas as células desse tecido. Em indivíduos portadores de obesidade, a inflamação do tecido adiposo está ligada a uma mudança na frequência de macrófagos do tipo M2, anti-inflamatórios. Nesse caso, os macrófagos do tecido adiposo são predominantemente polarizados em macrófagos pró-inflamatórios do tipo M1 e secretam muitas citocinas pró-inflamatórias capazes de prejudicar a sinalização da insulina e promover a progressão da resistência à insulina, além de perturbar diversas vias metabólicas. Embora muitos fatores estejam envolvidos no aumento do recrutamento de macrófagos para o tecido adiposo durante a obesidade, isso é atribuído principalmente à hipóxia/morte dos adipócitos. A obesidade está frequentemente associada à expansão dos adipócitos, o que aumenta a distância entre a vasculatura do tecido adiposo circundante e as células do tecido adiposo, diminuindo a perfusão, reduzindo a quantidade de oxigênio dentro do tecido e levando a condições de hipóxia. Os resultados dessa alteração incluem estresse oxidativo, fibrose e necrose

de adipócitos e infiltração de macrófagos para eliminar adipócitos necróticos, que posteriormente desencadeiam uma resposta inflamatória local e a produção de citocinas pró-inflamatórias. Os macrófagos são geralmente encontrados ao redor dos adipócitos mortos formando uma estrutura típica em forma de coroa, e a presença dessas estruturas está diretamente associada à resistência a insulina (Cinti *et al.*, 2005; Murano *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2014; Liu; Nikolajczyk, 2019).

Além dos macrófagos, o tecido adiposo contém outras células do sistema imune, como células B, células T, células dendríticas e neutrófilos, que também desempenham um papel na modulação da inflamação. As células do sistema imune associadas aos tecidos, especialmente as células T, desempenham um papel contribuinte na inflamação associada à obesidade. Em indivíduos com obesidade, observou-se que as células B produzem citocinas, infiltram-se no tecido adiposo e produzem anticorpos auto-reativos IgG que desencadeiam a inflamação local e promovem células T pró-inflamatórias. Além disso, também desempenham um papel na ativação de células T associadas à obesidade, apresentando antígenos às células T que ativam células dendríticas e macrófagos. Na obesidade também são observadas mudanças na população de células T das células adiposas. Parece haver uma diminuição nas células T reguladoras, um tipo de células T anti-inflamatórias, o que favorece uma maior ativação imunológica e contribui para o desenvolvimento da inflamação do tecido adiposo (Liu; Nikolajczyk, 2019; Srikakulapu; Mcnamara, 2020).

Geralmente a obesidade é ligada a altas concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e outros lipídios circulantes. Quando a capacidade de armazenamento de energia do tecido adiposo é ultrapassada, o resultado é a liberação de AGNE na circulação pela lipólise dentro dos adipócitos. Esses ácidos graxos podem causar lipotoxicidade, ou seja, podem acumular-se e exercer efeitos tóxicos em outros tecidos e órgãos, causando resistência à insulina e morte celular, além de contribuir para a regulação da produção e secreção de adipocinas (Pérez de Heredia *et al.*, 2009; Virtue; Vidal-Puig, 2010). Ainda, foi proposto que através da ativação de receptores celulares, como o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR), os AGNE possam atuar como ligantes naturais e induzir diretamente a via inflamatória, causando regulação positiva do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), essencial na iniciação da resposta inflamatória. Por fim, o PPAR também foi

relacionado por seu papel na mudança de fenótipo dos macrófagos do tecido adiposo de anti-inflamatório (M2) para pró-inflamatório (M1) (Coll *et al.*, 2010).

A inflamação na obesidade também pode favorecer uma cascata de adaptações hormonais que perturbam o balanço energético e a sinalização de fome. Estudos sugerem que o tecido adiposo pode secretar mais de 50 hormônios e moléculas sinalizadoras conhecidas como adipocinas, que desempenham papéis fundamentais na imunidade e no metabolismo da glicose. Tem sido descrito que o tecido adiposo de indivíduos magros secreta predominantemente adipocinas anti-inflamatórias, como interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10), antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra), fator transformador de crescimento beta (TGF $\beta$ ), adiponectina. Em contrapartida, o tecido adiposo de portadores de obesidade secreta predominantemente citocinas pró-inflamatórias, como interleucina (IL-6), TNF- $\alpha$ , proteína amiloide sérica A (SAA), resistina, visfatina, leptina (Waki; Tontonoz, 2007; Ouchi *et al.*, 2011).

Os marcadores inflamatórios liberados pelas células adiposas também contribuem para a inflamação em outros órgãos como o fígado, o pâncreas e, às vezes, o cérebro e os tecidos musculares. Tanto que concentrações aumentadas de proteína C reativa (PCR), um reagente sérico de fase aguda produzido pelo fígado, são comumente encontradas em indivíduos com obesidade. Entretanto, a inflamação do tecido adiposo tem um papel central na patologia da obesidade. Estudos anteriores demonstram que, após perda de peso, a inflamação no fígado pode ser resolvida, mas o tecido adiposo parece ter memória obesogênica e pode manter seu estado inflamatório. Alguns indivíduos portadores de obesidade que tenham perda substancial de peso - via cirurgia bariátrica, por exemplo, - podem apresentar resolução da inflamação do tecido adiposo ou não. Em alguns casos, mesmo após perda de peso, a inflamação contínua do tecido adiposo foi associada à resistência à insulina dos adipócitos (Schmitz *et al.*, 2016). A memória obesogênica do tecido adiposo pode estar relacionada ao fato de que o excesso de peso ou a obesidade durante a vida aumenta a mortalidade, independentemente da perda de peso (Yu *et al.*, 2017).

#### 1.4 TRATAMENTOS DA OBESIDADE

Recentemente, a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabolismo (SBEM) e a Sociedade Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO) propuseram uma classificação da obesidade baseada no histórico de peso. No documento, os autores descrevem que há uma visão difundida no tratamento da obesidade de que o objetivo é normalizar o IMC do indivíduo. As sociedades defendem que, independentemente do IMC final, uma perda de peso acima de 5% já pode ser associada à melhora clínica e que perdas de peso de 10% a 15% trazem ainda mais benefícios, dessa forma, que a porcentagem de redução de peso deve ser aceita como meta de tratamento, uma vez que uma maior redução de peso é frequentemente difícil de alcançar devido à adaptação metabólica somada a fatores ambientais e de estilo de vida. O documento elenca uma série de estudos que relatam resultados tais como: uma perda de peso de até 5% do peso corporal ajuda a regular marcadores metabólicos, melhora a fertilidade e diminui o risco de depressão; perda de 7% foi associada a um menor risco de DM2; perdas de peso acima de 10% têm efeitos importantes na esteato-hepatite e eventos cardiovasculares e perdas acima de 15% foram associadas a taxas de remissão do DM2 em até 86%. Dessa forma, como existe uma tendência natural do organismo em retornar ao peso máximo da vida (exceto o peso da gestação e outras situações específicas), o proposto pela SBEM e ABESO é que se deve sempre analisar o peso máximo de um indivíduo durante a vida e usar essa informação para avaliar o resultado de um tratamento e as reais necessidades de se perder mais peso. Dessa forma, indivíduos com perdas acima de 5% do máximo terão “obesidade reduzida” e acima de 10%, “controlada”. Para pessoas com IMC acima de 40, os índices mudam: 10% para reduzida e 15% para controlada. Segundo os autores, essa classificação não pretende substituir outras, mas servir como ferramenta adjuvante e colocar em cena tanto o caráter crônico da obesidade como também que o objetivo de um tratamento não é normalizar o IMC e sim trazer melhoras para a saúde e qualidade de vida (Halpern *et al.*, 2022).

Uma das maiores metas atuais da organização mundial da saúde (OMS) é reduzir a carga relacionada à obesidade para a saúde e as sociedades e reverter o aumento da prevalência da obesidade. A "Estratégia Global da OMS sobre Dieta, Atividade Física e Saúde" descreve as ações necessárias para apoiar dietas saudáveis e atividade física regular e apela a todas as partes interessadas para que tomem medidas a nível global, regional e local para melhorar as dietas e os padrões



de atividade física da população. A agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável reconhece as DNTs como um grande desafio e se compromete a desenvolver respostas nacionais até 2030 para reduzir em um terço a mortalidade prematura por DNTs por meio de prevenção e tratamento (WHO, 2023).

As recomendações de saúde atuais consideram que a causa fundamental da obesidade é um desequilíbrio energético entre calorias consumidas e calorias gastas. No entanto, as intervenções de perda de peso destinadas a reduzir a ingestão de calorias e aumentar o gasto de energia não costumam ser bem-sucedidas em longo prazo. Embora à primeira vista a responsabilidade seja do próprio indivíduo portador de sobrepeso ou obesidade, as mudanças comportamentais como mudança na dieta e prática de atividade física funcionam melhor quando são resultados de políticas públicas que tem apoio de setores como saúde, educação, agricultura, meio ambiente, marketing, economia (Swinburn *et al.*, 2011; Franco *et al.*, 2013). Dessa forma, a OMS reconhece que a alimentação saudável e o aumento da atividade física em toda a população devem ser promovidos por políticas e ações implementadas nas sociedades como um todo (WHO, 2023).

Nesse contexto, dependendo da duração e gravidade da obesidade e da presença de comorbidades, o tratamento pode ser clínico ou cirúrgico. A restrição da ingestão energética é uma das formas de reduzir o peso corporal e o exercício físico sustentado contribui para a redução e manutenção do peso corporal por meio da criação de um balanço energético negativo. Entretanto, como citado anteriormente, o maior problema das dietas hipocalóricas é a dificuldade da manutenção do peso após o término da mesma, isso porque não costuma haver uma mudança de hábitos e da sociedade em que o indivíduo está inserido (Monnier *et al.*, 2021; Ingersoll, 2021).

Além das mudanças no estilo de vida, medicamentos também podem ser utilizados para tratar a obesidade. Atualmente, a nível mundial, os medicamentos metreleptina e setmelanotida são indicados para o tratamento de formas monogênicas raras de obesidade e outros medicamentos, tais como: sibutramina, orlistat, fentermina/topiramato, naltrexona/bupropiona, liraglutida e semaglutida podem ser utilizados para o tratamento da chamada obesidade “comum”.

A metreleptina é um análogo da leptina aprovado pela FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) em 2014, pela EMA (do inglês, *European Medicines*

Agency) em 2018 e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em março de 2023. O medicamento é uma formulação injetável subcutânea aprovado para terapia de reposição de leptina em pacientes com deficiência de leptina por lipodistrofia congênita ou adquirida e comorbidades. Em estudos clínicos a metreleptina resultou em diminuição no gasto energético e no peso corporal, além de melhora nas concentrações de colesterol total, TG e glicemia de jejum (FDA, 2014b; EMA, 2018; Grover *et al.*, 2021; ANVISA, 2023a).

O setmelanotide é um agonista do receptor de melanocortina-4 (MC4R) aprovado pela FDA em 2020 e pela EMA em 2021, entretanto, ainda não foi aprovado no Brasil. Trata-se de uma formulação injetável subcutânea para controle crônico de peso em pacientes portadores de obesidade por mais de seis anos e que tenham teste genético confirmando variantes nos genes proopiomelanocortina (POMC), proproteína convertase subtilisina/kexina tipo 1 (PCSK1) ou deficiência do receptor de leptina (LEPR). Essas variantes genéticas resultam em hiperfagia e obesidade grave com início na infância e o medicamento é capaz de atuar na via do MC4R reduzindo a fome, diminuindo a ingestão calórica, aumentando o gasto energético e consequentemente, diminuindo o peso corporal (EMA, 2021; (Clément *et al.*, 2020; Haws *et al.*, 2021; FDA, 2022).

Para o tratamento da obesidade comum, a história da farmacoterapia é longa e conturbada, constituída por medicamentos promissores que foram retirados do mercado por questões de segurança. Nesse contexto, atualmente estão disponíveis vários medicamentos como a sibutramina, medicamento com finalidade emagrecedora com registro válido mais antigo no Brasil, desde 1998. Esse medicamento é um inibidor da recaptção de serotonina e norepinefrina que induz saciedade. Entretanto, apesar de aprovado no Brasil, esse medicamento foi contraindicado por diversas agências regulatórias após a publicação de um estudo evidenciando sérias reações adversas cardiovasculares (Maggioni *et al.*, 2008; ANVISA, 2009). Já o orlistate, medicamento amplamente aprovado pelas agências regulatórias, atua como inibidor das lipases gástrica e pancreática, reduzindo a absorção de gordura dietética pelo trato gastrointestinal e consequentemente limitando o teor calórico das refeições consumidas. Exerce seu efeito farmacológico formando uma ligação covalente com o sítio serina ativo das lipases gástrica e pancreática no lúmen do trato gastrointestinal. Essa ação impede que essas enzimas hidrolisem os TG da dieta em ácidos graxos livres absorvíveis e

monogliceróis. Há uma alta taxa de efeitos adversos, principalmente sintomas gastrointestinais e a perda de peso promovida é discreta (EMA, 1998; FDA, 2009; ANVISA, 2015; Sahebkar *et al.*, 2017).

A primeira combinação de princípios ativos para tratamento da obesidade foi fentermina/topiramato. Essa combinação é aprovada pela FDA, mas não pela ANVISA e EMA. A fentermina é um simpaticomimético de ação central que leva ao aumento da secreção de serotonina, norepinefrina e dopamina e age como um supressor do apetite, enquanto o topiramato é um agonista do ácido gama-aminobutírico (GABA), antagonista do glutamato e inibidor da anidrase carbônica e acredita-se que reduza o apetite alterando o paladar. A eficácia dessa combinação de medicamentos na redução do peso corporal foi comprovada em estudos clínicos randomizados envolvendo pacientes com sobrepeso e obesidade. A eficácia foi intimamente relacionada com a dosagem e o risco de eventos adversos relacionados ao sistema nervoso foi observado (FDA, 2012; Lei *et al.*, 2021).

A combinação de bupropiona com naltrexona é outra opção terapêutica amplamente aprovada nas agências regulatórias pesquisadas (FDA, EMA e ANVISA). A bupropiona é um inibidor seletivo da recaptação de catecolaminas (norepinefrina e dopamina), afetando a renovação da norepinefrina em todo o corpo. Estimula os neurônios hipotalâmicos POMC liberando o hormônio estimulante alfa-melanócito ( $\alpha$ -MSH), que se liga ao MC4R. A estimulação deste receptor inicia uma cascata de ações que resulta na diminuição da ingestão energética e aumento do seu gasto. Além do  $\alpha$ -MSH, os neurônios POMC secretam beta-endorfinas, que são agonistas endógenos do receptor opioide. As beta-endorfinas estão envolvidas no *feedback* negativo nos neurônios POMC, inibindo a excreção de  $\alpha$ -MSH. O bloqueio do receptor opioide pela naltrexona inibe a via do *feedback* negativo, permitindo uma ativação mais forte e permanente dos neurônios POMC e, conseqüentemente, aumentando o efeito anoréxico da bupropiona, dando assim um efeito hiperaditivo. A naltrexona é um antagonista específico dos receptores opioides que se liga competitivamente aos receptores localizados no sistema nervoso central e periférico, bloqueando o acesso de opioides exógenos (Apovian *et al.*, 2013; FDA, 2014a; EMA, 2015a; ANVISA, 2021).

As terapias farmacológicas mais atuais já aprovadas para o tratamento da obesidade são baseadas em análogos do hormônio peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), liraglutida e semaglutida. O GLP-1 é um regulador fisiológico do

apetite e da ingestão de calorias e o seu receptor está presente em várias regiões do cérebro envolvidas com a regulação do apetite, então esses medicamentos agem centralmente diminuindo o apetite e periféricamente, no pâncreas aumentando a secreção de insulina e no trato gastrointestinal levando à diminuição da motilidade intestinal e retardo no esvaziamento gástrico. A liraglutida é um análogo de GLP-1 de ação curta que foi indicado primeiramente para pacientes com DM2 na dose de 1,8 mg, uma vez ao dia por via subcutânea. Desde 2014 nos EUA, 2015 na Europa e 2022 no Brasil, sua indicação foi estendida até a dose de 3 mg uma vez ao dia para o tratamento da obesidade. Seus efeitos colaterais mais comuns são náuseas, diarreia e dor de cabeça geralmente transitórias e que, na maioria dos casos, cessam com o decorrer do tempo (EMA, 2015b; FDA, 2020; ANVISA, 2022; (Konwar *et al.*, 2022). Já a semaglutida é um análogo de GLP-1 de ação prolongada, aprovado em 2021 pela FDA, em 2022 pela EMA e em 2023 pela ANVISA para o tratamento da obesidade. Para o tratamento de DM2 a dose máxima semanal é de 1 mg por via subcutânea, já para o tratamento da obesidade, a dose máxima pode chegar a 2,4 mg. No Brasil, apesar de já aprovado, o medicamento na dose de 2,4 mg ainda não está sendo comercializado. A eficácia desse medicamento na redução de peso foi demonstrada em uma série de estudos (FDA, 2021; Gao *et al.*, 2022; EMA, 2023; ANVISA, 2023b).

Um estudo realizado em 2021 estratificou a obesidade em quatro diferentes fenótipos: cérebro faminto (saciedade anormal), fome emocional (alimentação hedônica), intestino faminto (saciedade anormal) e queima lenta (diminuição da taxa metabólica). Com base nessa classificação do fenótipo da obesidade, a terapia medicamentosa foi administrada da seguinte forma: indivíduos com o fenótipo “cérebro faminto”, receberam fentermina-topiramato de liberação prolongada na dose de 7,5/46 mg por dia; indivíduos classificados como “fome emocional” receberam liberação sustentada oral de naltrexona/bupropiona na dose de 16/180 mg duas vezes ao dia; àqueles classificados como “intestino faminto” receberam liraglutida 3 mg por via subcutânea diariamente; e os indivíduos com o fenótipo “queima lenta” receberam fentermina 15 mg por dia combinado a treinamento de resistência. Indivíduos com dois ou mais fenótipos tiveram o fenótipo predominante selecionado. Os pesquisadores relataram que a abordagem guiada pelo fenótipo foi associada a uma perda de peso 1,75 vezes maior após um ano e a proporção de pacientes que perderam >10% do peso corporal em um ano foi de 79% em

comparação com 34% dos pacientes sem fenótipo estabelecido. Os autores afirmam que a classificação baseada no fenótipo reduz a heterogeneidade da obesidade e pode servir como uma ferramenta valiosa para guiar o tratamento medicamentoso da obesidade (Acosta *et al.*, 2021).

Entretanto, mesmo com novas abordagens e mesmo com a inserção de novos fármacos no mercado - como os análogos do GLP-1 - com resultados promissores para a perda de peso, os efeitos colaterais e a dificuldade de manutenção do peso após a interrupção da terapia fazem com que essa opção de tratamento não seja tão atrativa (Ingersoll, 2021; Iqbal *et al.*, 2022). Apesar das muitas opções para o tratamento da obesidade, o fracasso dos tratamentos clínicos tem levado à indicação do tratamento cirúrgico da obesidade.

#### **1.4.1 Cirurgia bariátrica**

A cirurgia bariátrica, também chamada de cirurgia metabólica, é um tratamento eficaz para obesidade grave que resulta na melhora metabólica e remissão de muitas comorbidades relacionadas à obesidade, além de proporcionar perda de peso sustentada, melhora na qualidade de vida e aumento na sobrevida do paciente. Entretanto, problemas como deficiências vitamínicas, hipoglicemia pós-prandial e complicações como obstrução do intestino delgado, estenose, úlceras e fístulas não estão isentas (Mingrone *et al.*, 2015; Rebelos *et al.*, 2020; Steenackers *et al.*, 2022). Desde a sua criação há mais de 50 anos, o panorama da cirurgia bariátrica mudou drasticamente, com refinamento das técnicas cirúrgicas, desenvolvimento de abordagem laparoscópica e de novos dispositivos cirúrgicos bariátricos. A maioria das operações bariátricas atuais são realizadas por laparoscopia, técnica cirúrgica minimamente invasiva. As principais vantagens da abordagem laparoscópica incluem recuperação rápida, redução da dor pós-operatória e redução das complicações relacionadas à ferida em comparação com as técnicas convencionais de cirurgia aberta. Dessa forma, esses procedimentos são considerados seguros, com taxa de mortalidade de 0,08% em 30 dias e 0,31% após 30 dias (Puzziferri *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2014; Varela; Nguyen, 2015).

Embora várias cirurgias disabsortivas e restritivas tenham sido utilizadas, nas últimas décadas as duas cirurgias amplamente realizadas mundialmente são o *bypass* gástrico em Y de Roux (BGYR) e a gastrectomia vertical ou *sleeve* gástrico

(SG). Outros tipos de cirurgias bariátricas, incluindo banda gástrica e desvio biliopancreático, são menos comumente realizadas devido à diminuição da eficácia para perda de peso e resolução do DM2, no caso da banda gástrica ou pela grande má absorção de micronutrientes e macronutrientes, no caso do desvio biliopancreático. O SG envolve a remoção de aproximadamente 80% do estômago e o BGYR envolve a restrição do tamanho gástrico com a criação de uma pequena bolsa gástrica e o reencaminhamento do trato intestinal, de modo que os nutrientes ingeridos sejam despejados diretamente no jejuno, contornando 95% do estômago, duodeno e jejuno proximal. Embora o BGYR tenha sido considerado o procedimento bariátrico padrão-ouro por muitos anos, a utilização do SG tem aumentado constantemente e, atualmente, é a técnica cirúrgica mais realizada em todo o mundo, em grande parte porque é um procedimento mais simples que requer um tempo operatório mais curto do que BGYR. BGYR e SG têm eficácia geralmente comparável para perda de peso, que está potencialmente relacionada a respostas fisiológicas semelhantes, incluindo entrada rápida de nutrientes no intestino, aumento da secreção pós-prandial de peptídeos intestinais e aumento das concentrações de ácidos biliares. No controle das comorbidades e maior perda de peso, as comparações entre as técnicas cirúrgicas indicam potência igual em alguns estudos, enquanto outros demonstram uma eficácia um pouco maior do BGYR (Nosso *et al.*, 2016; Schauer *et al.*, 2017; Sharples; Mahawar, 2020; Gomes-Rocha *et al.*, 2022). No Brasil, a técnica cirúrgica mais utilizada ainda é o BGYR (73,6% das cirurgias) (Welbourn *et al.*, 2019).

De acordo com as diretrizes de 2022 da Sociedade Americana de Cirurgia Metabólica e Bariátrica e da Federação Internacional para a Cirurgia da Obesidade e Distúrbios Metabólicos, a cirurgia bariátrica é recomendada para pacientes com IMC acima de 35 kg/m<sup>2</sup>, independentemente de presença, ausência ou gravidade de comorbidades e essas sociedades sugerem que a cirurgia bariátrica deve ser considerada em pacientes com obesidade grau 1 (IMC 30–34,9 kg/m<sup>2</sup>) e doenças metabólicas (Eisenberg *et al.*, 2022). No Brasil, o documento que regulamenta a cirurgia bariátrica é a Portaria nº 424 do Ministério da Saúde, de 19 de março de 2013, que considera indicações para cirurgia bariátrica: indivíduos com IMC > 50 kg/m<sup>2</sup> isoladamente; indivíduos que com IMC > 40 kg/m<sup>2</sup>, com ou sem comorbidades, sem sucesso no tratamento clínico longitudinal realizado, por no mínimo dois anos e que tenham seguido protocolos clínicos ou indivíduos com IMC

> 35 kg/m<sup>2</sup> e com comorbidades, tais como pessoas com alto risco cardiovascular, DM2 e/ou hipertensão arterial sistêmica de difícil controle, apneia do sono, doenças articulares degenerativas, sem sucesso no tratamento clínico longitudinal realizado por no mínimo dois anos e que tenham seguido protocolos clínicos (Ministério da Saúde, 2013).

Em 2016, foi publicada pelo Conselho Federal de Medicina (CFM) a resolução nº 2.131/15 que especifica quais comorbidades podem ser consideradas para a realização de cirurgia bariátrica em pacientes com IMC > 35 kg/m<sup>2</sup>. As comorbidades incluem diabetes, apneia do sono, hipertensão arterial, dislipidemia, doenças cardiovasculares incluindo doença arterial coronariana, infarto do miocárdio, angina, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular cerebral, hipertensão e fibrilação atrial, cardiomiopatia dilatada, síndrome de hipoventilação, asma grave não controlada, osteoartroses, hérnias discais, refluxo gastroesofageano com indicação cirúrgica, colecistopatia calculosa, pancreatites agudas de repetição, esteatose hepática, incontinência urinária de esforço na mulher, infertilidade masculina e feminina, disfunção erétil, síndrome dos ovários policísticos, veias varicosas e doença hemorroidária, hipertensão intracraniana idiopática, estigmatização social e depressão (CFM, 2015).

Muitos sistemas de saúde não consideram a obesidade uma doença crônica progressiva e o aumento acentuado dos casos de obesidade grave nas últimas décadas reflete a falha desses sistemas em tratar a obesidade em seus estágios iniciais, restando apenas o tratamento cirúrgico da obesidade como alternativa. Entretanto, apesar de muito benéfica aos pacientes submetidos a esses procedimentos, a cirurgia bariátrica não pode ser a solução para o aumento mundial da prevalência de obesidade. A natureza progressiva e crônica da obesidade está sendo negligenciada, o que contribui para a manutenção do progresso da doença. Com o ganho de peso, fatores psicológicos como estresse e estigma do peso corporal aumentam e a capacidade de realização de atividades físicas diminui, levando a um ciclo vicioso de maior ganho de peso e até a comportamentos alimentares compulsivos (Hebebrand *et al.*, 2014; Phelan *et al.*, 2015; Bray; Kim; Wilding, 2017; Ramos *et al.*, 2017).

Diante do exposto, no contexto de perda de peso após cirurgia bariátrica, diversos parâmetros devem ser avaliados devido às novas circunstâncias metabólicas. Assim, objetivou-se avaliar marcadores relacionados a essa melhora

metabólica, como inflamação, dislipidemia e hormônios, em um seguimento após cirurgia bariátrica. Além disso, com o aumento das informações acerca do componente genético da obesidade, a identificação da relação entre o genótipo e o fenótipo proporciona a geração de informações que ajudam a definir mutações patogênicas ou não. Sendo assim, o entendimento da relação entre as mutações de genes e os diferentes fenótipos de obesidade são importantes para o entendimento fisiopatológico e genético envolvidos na obesidade e foram explorados.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os pacientes com obesidade grave submetidos à cirurgia bariátrica no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) quanto aos desfechos clínicos e laboratoriais após intervenção cirúrgica e realizar uma análise computacional de genes envolvidos na obesidade para identificar os SNPs funcionalmente deletérios.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos da cirurgia bariátrica sobre o IMC dos pacientes portadores de obesidade submetidos à cirurgia bariátrica após 30, 90 e 180 dias do procedimento cirúrgico;

Verificar alterações de exames laboratoriais relacionados ao metabolismo de carboidratos (glicemia em jejum, insulina) e ao perfil lipídico (TG, HDL-C, não-HDL-C, além de índices de risco);

Avaliar a inflamação com modelo *in vitro* utilizando células endoteliais;

Determinar as concentrações de IFN- $\gamma$ , IL-10, NO, IL-6 e MCP-1 no sobrenadante das células endoteliais;

Determinar o potencial de membrana mitocondrial das células endoteliais;

Determinar o tamanho das partículas de HDL no soro dos pacientes portadores de obesidade;

Avaliar as concentrações de vitamina D e PTH antes e depois da cirurgia bariátrica;

Realizar uma curadoria de conjuntos de dados de variantes *missense* envolvidas na obesidade;

Realizar predição de nsSNPs no conjunto de dados estudados;

Proceder análise de bioinformática;

Comparar resultados encontrados em bases de dados globais com bases de dados brasileiras.

### **3 CAPÍTULO I - IMPACTO DA CIRURGIA BARIÁTRICA NO METABOLISMO DA VITAMINA D E NAS DEFICIÊNCIAS DE MICRONUTRIENTES NA OBESIDADE GRAVE**

#### **3.1 REVISÃO DA LITERATURA**

Dados globais recentes revelaram que a obesidade aumentou exponencialmente nos últimos 30 anos e tornou-se um problema de saúde pública devido à comorbidades associadas à obesidade, como doenças cardiovasculares, DM2 e diversos tipos de câncer (WHO, 2023). Devido à dificuldade de manutenção da perda de peso com o tratamento clínico da obesidade grave, a cirurgia bariátrica popularizou-se. Este procedimento tem sido utilizado como intervenção eletiva e com cuidados pré-operatórios adequados e acompanhamento ao longo da vida, leva à promoção e manutenção de perda de peso substancial (até 80% do excesso de peso), redução de comorbidades e melhoria da qualidade de vida desses indivíduos (Ding *et al.*, 2020; Chacon *et al.*, 2022). Em uma meta-análise de dados de 174.772 pessoas, a expectativa de vida aumentou 6,1 anos e a mortalidade foi 49,2% menor do que em pacientes obesos controle, com ou sem outro tratamento, 30 anos após a cirurgia (Syn *et al.*, 2021). Os procedimentos cirúrgicos podem ser classificados em três categorias: restritivos, disabsortivos e uma combinação de ambos. O procedimento mais comum é o BGYR, uma combinação de procedimentos restritivos e disabsortivos, e o restritivo, SG. Esses procedimentos podem afetar a absorção, a saciedade e a regulação neuro-hormonal do controle da fome e do gasto energético (Chacon *et al.*, 2022).

Embora o consumo alimentar excessivo seja um dos fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade, esses indivíduos muitas vezes apresentam deficiências de micronutrientes, antes e depois da cirurgia bariátrica (Mohapatra; Gangadharan; Pitchumoni, 2020). Entre os indivíduos portadores de obesidade, a deficiência de micronutrientes mais comum é a deficiência de vitamina D. Esta vitamina é importante para a homeostase do cálcio e o metabolismo ósseo. Há preocupações de que a saúde óssea possa ser afetada negativamente pela cirurgia bariátrica e que a deficiência de vitamina D possa desempenhar um papel importante nesse processo (Wei *et al.*, 2018; Ablett; Boyle; Avenell, 2019; Geoffroy *et al.*, 2019).

### 3.1.2 Vitamina D

Os primeiros relatos clínicos do raquitismo, doença relacionada à vitamina D, foram feitos por Whistler, em 1645 e por Glisson, em 1651 (Dunn, 1998). Entretanto, somente com a Revolução Industrial, com o grande deslocamento da população rural para as áreas urbanas, o raquitismo se tornou um problema de saúde pública, principalmente na Inglaterra, onde a intensidade da luz solar era diminuída durante grande parte do ano. Apenas em 1911, foi descrita pela primeira vez a hipótese da existência das vitaminas. A presença de uma 'amina vital' nos alimentos e sua necessidade para a sobrevivência foi descrita por Funk (Funk, 1911).

Em 1919, Mellanby concluiu que o raquitismo poderia ser uma doença de deficiência alimentar. Em seu experimento, cães foram alimentados com uma dieta com base em aveia, consumida principalmente pelos escoceses, que tinham grande incidência de raquitismo. Os cães desenvolveram raquitismo e foram curados com uma dieta a base de óleo de fígado de bacalhau e, assim, concluiu que a vitamina A fosse a possível responsável pela prevenção do raquitismo (Mellanby, 1919).

Após isso, em 1922, McCollum *et al.* degradaram a vitamina A do óleo de fígado através do contato com o oxigênio e o composto manteve a capacidade de curar o raquitismo. Sendo assim, os autores concluíram que o fator que curava o raquitismo seria uma nova vitamina, batizada de vitamina D (COLLUM *et al.*, 1922). Ao mesmo tempo, alguns pesquisadores descobriram que crianças portadoras de raquitismo poderiam ser curadas através da exposição à luz do sol (Hulshinsky, 1919; Hess; Unger, 1921).

O primeiro relato de isolamento e identificação de vitamina D é datado de 1932, quando a vitamina D<sub>2</sub> foi isolada de uma mistura de irradiação de ergosterol (Askew *et al.*, 1930). Em 1931, Windaus e colaboradores relataram que a vitamina D<sub>1</sub> se trata de uma soma entre a vitamina D<sub>2</sub> e lumisterol (Windaus; Lüttringhaus; Deppe, 1931). Em 1935, o 7-deidrocolesterol foi isolado por Windaus *et al.* (Windaus; Lettre; Schenck, 1935) e, em 1937, a vitamina D<sub>3</sub> foi identificada por Windans e Bock (Windans; Bock, 1937). Em 1978, Esvelt e colaboradores isolaram e identificaram a vitamina D<sub>3</sub> por espectrometria de massa e comprovaram que a vitamina D é formada na pele através da ativação da síntese desta substância pelos raios ultravioletas do tipo B (UVB) (Esvelt; Schnoes; Deluca, 1978).

Embora denominada vitamina, sabe-se que a vitamina D é conceitualmente um pró-hormônio que desempenha papel fundamental na homeostase do cálcio e fósforo e no metabolismo ósseo. Uma das suas principais funções é manter o equilíbrio do cálcio esquelético, promovendo a absorção de cálcio intestinal e reabsorção óssea, aumentando o número de osteoclastos, mantendo as concentrações de cálcio e fosfato para a formação óssea e permitindo o funcionamento adequado do hormônio da paratireoide (PTH). A deficiência de vitamina D pode resultar em menor densidade mineral óssea e osteoporose ou fratura óssea. Além de seu papel na saúde óssea e metabolismo do cálcio e fósforo, é conhecida também sua importância em funções imunológicas e em doenças crônicas (DANKERS *et al.*, 2017). O receptor de vitamina D (VDR) pode estar envolvido na proliferação e diferenciação celular e está expresso em várias células imunológicas como monócitos e células T e B ativadas. Várias evidências mostram que a vitamina D desempenha também um papel importante na saúde extra-esquelética e na fisiopatologia de diversas doenças como DM2, câncer, doenças cardiovasculares e distúrbios autoimunes, pois parece ter papel na regulação da resposta inflamatória (Lang; Aspinall, 2017). Nos últimos anos seu papel na resposta imunológica ganhou grande destaque devido à pandemia de COVID-19, uma vez que estudos mostram a relação da vitamina D com doenças respiratórias e imunidade e da hipovitaminose D com surgimento ou agravamento da doença. No entanto, não existem evidências científicas suficientes para encorajar a suplementação de vitamina D como tratamento da COVID-19 (Barrea *et al.*, 2022).

A síntese endógena na exposição da pele à radiação UVB (290–315 nm) constitui a principal fonte de vitamina D em humanos. Em menor grau, as fontes dietéticas incluem alguns alimentos naturais (principalmente peixes oleosos) e alimentos fortificados (laticínios, suco de laranja, óleo de cozinha) (Holick, 2007; Samuel; Borrell, 2014).

Os principais fatores de risco para hipovitaminose D são relacionados à diminuição da síntese cutânea (exposição solar inadequada e pele escura), diminuição da ingestão, aleitamento materno exclusivo (pela baixa concentração de vitamina D no leite materno), doenças que afetam a absorção intestinal, doenças hepáticas ou renais que interfiram na síntese da forma ativa, uso de medicamentos e obesidade. Estima-se que um bilhão de pessoas no mundo tenha deficiência ou insuficiência de vitamina D (Holick, 2007). A hipovitaminose D constitui um problema

de saúde pública mundial, podendo acometer mais de 90% da população. Já a deficiência de vitamina D varia com a região geográfica, com prevalência estimada em 15% em estudo com população geral pediátrica nos Estados Unidos (Mansbach; Ginde; Camargo, 2009). Recomenda-se a suplementação profilática de vitamina D em crianças e adolescentes que não tenham exposição solar regular, com ingestão inadequada na dieta e em todas as crianças em aleitamento materno exclusivo (Vilefort *et al.*, 2021).

O melhor indicador para avaliar o status de vitamina D é o metabólito 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) (Maeda *et al.*, 2014). As concentrações séricas de 25(OH)D refletem a contribuição da dieta e da síntese endógena e são usados como um índice do estado nutricional de vitamina D. Não há consenso em relação ao valor de corte para definição de deficiência e insuficiência de vitamina D. Na literatura, os valores variam de 20 a 32 ng/mL (50 a 80 nmol/L) (Reid; Avenell, 2011). Um dos fatores que deve ser considerado quando se avaliam as concentrações dessa vitamina é a variabilidade dos métodos usados para mensuração, sendo aqueles baseados em cromatografia considerados o padrão ouro. Métodos imunométricos automatizados podem ser utilizados na prática clínica, considerando-se a boa correlação com o método de excelência, praticidade e menor custo (Maeda *et al.*, 2014).

Mundialmente tem havido um debate sobre os limites sugeridos para definir a deficiência e insuficiência de vitamina D. No Brasil, a atualização mais recente é de 2020 e se baseia na idade e nas características individuais. Para a população saudável (idade inferior a 65 anos) são sugeridos valores acima de 20 ng/mL, para indivíduos de grupos de risco (como idosos, obesos e indivíduos após cirurgia bariátrica) são sugeridos valores entre 30-60 ng/mL. Independente da faixa etária, valores acima de 100 ng/mL são considerados com risco de toxicidade e hipercalcemia (Moreira *et al.*, 2020).

### 3.1.2.1 Formas de Vitamina D

A vitamina D, também conhecida como calciferol, apresenta diversos vitâmeros, que consistem em uma série de compostos químicos com estrutura molecular semelhante. A vitamina D consiste em um grupo de vitaminas lipossolúveis tradicionalmente reconhecidas por seu papel na manutenção da

homeostase do cálcio e do fósforo, entretanto, as formas mais estudadas e com maior atividade biológica são a vitamina D2 - o ergocalciferol - e a vitamina D3 - o colecalciferol (Ross *et al.*, 2011).

Quanto a estrutura química, as formas de vitamina D são secosteroides, moléculas derivadas de esteroides nos quais uma das ligações nos anéis é quebrada, ocasionando a separação de suas ligações químicas. Estruturalmente, a cadeia lateral da vitamina D2 difere da vitamina D3 por ter uma ligação dupla entre os carbonos 22 e 23 e um grupo metila no carbono 24. Tais diferenças estruturais não interferem no metabolismo e ativação da vitamina D. Ambas funcionam como pró-hormônios que, quando ativadas, apresentam respostas muito semelhantes (Bikle, 2014).

### 3.1.2.1 *Produção cutânea de vitamina D*

A vitamina D3 (colecalciferol) é sintetizada na pele humana a partir do substrato de vitamina D 7-deidrocolesterol após exposição à radiação UVB. O 7-deidrocolesterol é produzido na pele pela via de Kandutsch-Russell, através de uma reação enzimática. Essa via resulta na produção de colesterol pela enzima 7-deidrocolesterol redutase ou vitamina D pela radiação UVB (Prabhu *et al.*, 2016). A produção de vitamina D3 consiste em um processo não enzimático e de duas etapas, no qual o anel B é quebrado pela radiação da luz UV (espectro 280-320 UVB) do sol, formando a pré- vitamina D3, que passa por um processo de isomerização térmica em vitamina D3. A ativação térmica da pré-vitamina D3 na pele dá origem a algumas formas não-vitamina D, como o lumisterol e o taquisterol, o que pode ser um fator limitante da formação da vitamina D3. Além disso, a vitamina D3 também pode ser convertida em formas não ativas (Tian; Holick, 1995).

Holick e colaboradores demonstraram que a formação de pré-vitamina D sob a influência da radiação solar é relativamente rápida e atinge o pico em poucas horas. No entanto, apesar de não alterarem as concentrações máximas alcançadas, o grau de pigmentação da epiderme e a intensidade da exposição solar são fatores determinantes no tempo necessário para atingir o pico de pré-vitamina D3. Assim como a pré-vitamina D3, o taquisterol também alcança uma concentração máxima e não se acumula com a exposição prolongada aos raios UV. Em contrapartida, o lumisterol biologicamente inativo continua a se acumular com a exposição contínua

aos raios UV, mas sua formação é reversível e pode ser convertida novamente em pré-vitamina D3 à medida que ocorre uma queda na concentração (Holick *et al.*, 1979; Holick *et al.*, 1980; Holick; Maclaughlin; Doppelt, 1981).

A produção de vitamina D3 via pele pode ser influenciada por diversos fatores como a intensidade dos raios UVB, que varia de acordo com a estação do ano e a latitude, além de fatores como a pigmentação da pele (a melanina na pele impede que os raios UVB alcancem o 7-deidrocolesterol), a quantidade de pele exposta, o uso de roupas e protetor solar e até a idade, que influencia tanto por uma queda nas concentrações de 7-deidrocolesterol, quanto por alterações morfológicas da pele com o passar dos anos (Maclaughlin; Holick, 1985; Holick *et al.*, 1980).

### 3.1.3 O metabolismo da vitamina D

Para que se tornem biologicamente ativas, as vitaminas D2 e D3 sofrem duas reações sequenciais de hidroxilação enzimática. A primeira ocorre no fígado e resulta na conversão das vitaminas D2 e D3 em 25(OH)D ou calcidiol, a principal forma circulante. Já a segunda reação de hidroxilação ocorre nos rins, onde a 25(OH)D é convertida em sua forma com atividade biológica máxima, 1,25 diidroxi-vitamina D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) ou calcitriol (Christakos *et al.*, 2010).

Cerca de 85% dos metabólitos da vitamina D são transportados no sangue ligados à proteína de ligação à vitamina D (DBP) e cerca de 15% circulam ligados à albumina. Normalmente, apenas aproximadamente 0,03% de 25(OH)D e 0,4% 1,25(OH)<sub>2</sub>D encontram-se livres na circulação, isso porque a DBP tem alta afinidade com os metabólitos da vitamina D. Além disso, apenas cerca de 2% da DBP é saturada, já que as concentrações de DBP encontram-se bem acima das concentrações dos metabólitos da vitamina D (Bikle *et al.*, 1985).

#### 3.1.3.1 Fase hepática

Ainda que vários outros tecidos expressem essa atividade enzimática, a hidroxilação das vitaminas D2 e D3 a 25(OH)D ocorre principalmente no fígado. Desde o início dos estudos acerca das possíveis 25-hidroxilases hepáticas, foram encontradas atividades nas frações mitocondrial e microsomal, e estudos

posteriores demonstraram que várias enzimas do citocromo P450 (CYPs) possuem essa atividade.

A CYP27A1 – uma enzima encontrada nas mitocôndrias e amplamente distribuída em diferentes tecidos com quantidades maiores no fígado e músculo, mas também no rim, intestino, pulmão, pele e ossos - foi identificada inicialmente catalisando uma etapa crítica na via de síntese de ácidos biliares. A CYP27A1 é capaz de realizar 25-hidroxiilação apenas da vitamina D3. Mutações no CYP27A1 estão associadas ao metabolismo anormal da vitamina D e/ou do cálcio (Berginer *et al.*, 1993; Leitersdorf *et al.*, 1994). No entanto, camundongos nocaute para CYP27A1 apresentam concentrações sanguíneas de 25(OH)D elevadas, juntamente com a interrupção da síntese de ácidos biliares (Zhu *et al.*, 2013).

Na sequência, Cheng e colaboradores identificaram a CYP2R1 na fração microsossomal hepática murina. Esta enzima é expressa principalmente no fígado e testículos e é capaz de 25-hidroxiilar as vitaminas D2 e D3, ao contrário do CYP27A1 (Cheng *et al.*, 2003). Em camundongos nocaute para CYP27A1, a expressão de CYP2R1 está aumentada, fato que pode explicar o aumento das concentrações de 25-hidroxi-vitamina D nesses camundongos. Já em camundongos nocaute para CYP2R1, a quantidade de 25-hidroxi-vitamina D apresenta uma queda maior que 50%. Mesmo a deleção das duas enzimas, CYP2R1 e CYP27A1, não elimina totalmente a produção de 25(OH)D (Zhu *et al.*, 2013). Dessa forma, nem o CYP27A1 nem o CYP2R1 sozinhos respondem por toda a atividade da 25-hidroxiase, sugerindo compensação por outras enzimas com atividade de 25-hidroxilase.

Com base no exposto, a principal enzima - mas não a única - responsável pela produção de 25(OH)D em circunstâncias fisiológicas é a CYP2R1. A 25(OH)D é o principal metabólito circulante da vitamina D e é o marcador clinicamente mais utilizado para avaliar o estado desta vitamina.

### 3.1.3.2 Fase renal

Após a formação de 25(OH)D no fígado, esse metabólito é convertido a 1,25(OH)2D sob a ação da 25-hidroxi-vitamina D 1 $\alpha$ -hidroxilase, a CYP27B1. Diferente da 25-hidroxiilação, até o momento, apenas uma enzima é reconhecida por ter essa atividade, a CYP27B1. O rim é o principal, senão o único, contribuinte de



1,25(OH)<sub>2</sub>D circulante, o metabólito hormonal responsável pela maioria das ações biológicas da vitamina D.

A enzima CYP27B, 1,25-hidroxi-vitamina D 1 $\alpha$ -hidroxilase, foi clonada e sequenciada por quatro grupos independentes que relacionaram suas mutações à um tipo raro de raquitismo autossômico anteriormente conhecido como raquitismo por deficiência de pseudovitamina D, que agora é conhecida como raquitismo dependente de vitamina D tipo 1A, causada pela produção inadequada de 1,25(OH)<sub>2</sub>D, mesmo com a ingestão normal de vitamina D (Fu *et al.*, 1997; Shinki *et al.*, 1997; St-Arnaud *et al.*, 1997; Takeyama *et al.*, 1997). Além disso, as características clínicas dessa doença como raquitismo, retardo no crescimento, hipocalcemia, hiperparatireoidismo secundário, além de concentrações de 1,25(OH)<sub>2</sub>D indetectáveis, foram observadas em um modelo animal em que o gene da CYP27B foi eliminado por recombinação homóloga (Dardenne *et al.*, 2001).

Dentro das células, a CYP27B é encontrada nas mitocôndrias e, ainda que o rim possa ser a principal fonte de 1,25(OH)<sub>2</sub>D para a circulação, vários outros tecidos como a epiderme e outros tecidos epiteliais, osso, placenta e células do sistema imunológico expressam essa enzima. A expressão do CYP27B1 no rim é fortemente regulada principalmente por três fatores: PTH, fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23) e pela 1,25(OH)<sub>2</sub>D propriamente dita (BIKLE; PATZEK; WANG, 2018). O FGF23 e a 1,25(OH)<sub>2</sub>D são capazes de inibir a CYP27B1, enquanto o PTH tem ação estimulante. Além disso, por meio da supressão do PTH, a elevação de cálcio é capaz de limitar a ação da CYP27B1 e, pela estimulação do FGF23, a elevação do fosfato também pode suprimir essa enzima. Nesse sentido, a 1,25(OH)<sub>2</sub>D pode interferir negativamente na atividade da CYP27B1 inibindo o PTH e aumentando a produção de FGF23. Ainda, pode atuar na redução das concentrações de 1,25(OH)<sub>2</sub>D pela indução da catalisação da CYP24A1 e inibir diretamente a expressão de CYP27B1 no rim através de um mecanismo complexo envolvendo o VDR e o receptor inibitório de vitamina D, inibindo sua transcrição (Kim *et al.*, 2007). Já em tecidos não renais, o CYP27B1 é regulado por várias citocinas, incluindo interferon- $\gamma$  e TNF, mas não por cálcio, fosfato, PTH, FGF23 ou pela 1,25(OH)<sub>2</sub>D (Adams *et al.*, 2014).

Além da ação da CYP27B1 no rim, tanto a 25(OH)D quanto a 1,25(OH)<sub>2</sub>D podem ser convertidas em 24,25 dihidroxivitamina D pela CYP24A1, entretanto, a 1,25(OH)<sub>2</sub>D é o substrato preferido desta enzima. A CYP24A1 é capaz de limitar a

quantidade circulante de 1,25(OH)<sub>2</sub>D. A via da 24-hidroxilase resulta no ácido calcitrico biologicamente inativo - que é direcionado para excreção - ou produz 24,25 dihidroxivitamina D, diminuindo a quantidade de 25(OH)D disponível para 1 $\alpha$ -hidroxilação. Em contrapartida, a via da 23-hidroxilase acaba produzindo a 1,25-26,23 lactona biologicamente ativa. A CYP24A1 está presente em todas as células que contêm VDR. Assim, além de regular as concentrações circulantes de a 1,25(OH)<sub>2</sub>D, ela também pode modular essas concentrações dentro da célula, resultando em resposta celular adequada. Além disso, a CYP24A1 é a enzima catabólica da vitamina D dominante na maioria dos tecidos (Jones; Prosser; Kaufmann, 2012).

### 3.1.4 PTH

O PTH, também conhecido como paratormônio, é produzido e secretado exclusivamente pelas células principais, localizadas na glândula paratireoide. A glândula paratireoide é composta por quatro pequenas glândulas localizadas posteriormente à tireoide, na face média da parte anterior do pescoço. O PTH é um polipeptídeo sintetizado e clivado em sua forma ativa nesta glândula e o gene humano que codifica o PTH está localizado no cromossomo 11. A estrutura inicial formada é um pré-pró-PTH, um polipeptídeo de 115 aminoácidos que é clivado dando origem ao pró-PTH, composto por 90 aminoácidos. Uma segunda clivagem ocorre na porção amino-terminal para formar o PTH ativo, composto por 84 aminoácidos. Este é o principal hormônio armazenado e secretado e que possui função biológica. Estima-se que o processo de síntese, clivagem e armazenamento leve menos de uma hora (Hruska *et al.*, 1981; Naylor *et al.*, 1983).

Esse hormônio tem como função primária a regulação da homeostase do cálcio. A secreção ativa de PTH pode ocorrer em poucos segundos quando baixas concentrações séricas de cálcio ionizado são detectadas. O mecanismo de secreção ocorre via exocitose, processo em que o hormônio é liberado através de uma vesícula membranar transportada para a membrana celular, liberando o hormônio após a fusão da vesícula com a membrana externa. A meia-vida sérica do PTH ativado é de alguns minutos, após isso é rapidamente removido da circulação pelos rins e fígado (Hruska *et al.*, 1981).

Por outro lado, a ligação do cálcio ionizado ao receptor sensível ao cálcio (CaSR) resulta em sinalização na glândula paratireoide, que inibe a secreção de PTH e favorece a liberação de fragmentos de PTH. De maneira geral, a inibição máxima da secreção de PTH induzida por cálcio geralmente ocorre em concentrações de cálcio de aproximadamente 2 mmol/L ou mais e a secreção máxima de PTH geralmente ocorre em com concentrações de cálcio de aproximadamente 0,5 mmol/L ou menos. Embora a meia-vida plasmática do PTH intacto seja de apenas alguns minutos, a depuração renal dos fragmentos do PTH é mais lenta. Em condições normais de cálcio até 80% do PTH circulante são fragmentos inativos e aproximadamente 20% é PTH biologicamente ativo (Brown, 1983).

O PTH exerce suas funções ligando-se ao receptor do hormônio da paratireoide 1 (PTH1R). O PTH1R é altamente expresso nos ossos e nos rins. Em humanos, o PTH funciona predominantemente através do PTH1R encontrado na superfície dos osteoblastos e células estromais nos ossos e das células renais nas membranas apicais e basolaterais dos túbulos. O PTH1R é um receptor acoplado à proteína G de sete transmembranas, ligado às proteínas G heterotriméricas Gs e Gq. A ativação de PTHR1 por sinais de PTH ocorre através de diversas vias intracelulares, incluindo proteína quinase A e proteína quinase C. A terminação da sinalização do PTH1R é alcançada através de *feedback* negativo da secreção do PTH em resposta à restauração das concentrações de cálcio iônico ou por um processo de dessensibilização-internalização do receptor (Jüppner *et al.*, 1991; Abou-samra *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 1996; Miedlich; Abou-Samra, 2008).

Em resposta a sinais endócrinos e parácrinos, a estrutura óssea está em constante remodelação e é mantida através do equilíbrio entre formação e degradação. Como resultado da degradação do principal componente mineral da matriz óssea, a reabsorção óssea leva à liberação de íons cálcio e fosfato. A exposição contínua ao PTH elevado no osso causa uma resposta catabólica que promove aumento da reabsorção óssea mediada pelos osteoclastos resultando em perda óssea, enquanto a injeção intermitente (1-2 horas por dia) leva a uma resposta anabólica que favorece a estimulação da formação óssea ao invés da degradação, aumentando da densidade mineral óssea (Li *et al.*, 2007). Os osteoblastos ou os precursores de células estromais, que possuem PTH1R, são cruciais para o efeito de formação óssea mediada pelo PTH. Os osteoclastos, que

medeiam a degradação óssea, não possuem esses receptores. A estimulação dos osteoclastos mediada pelo PTH é indireta, agindo em parte por meio de citocinas liberadas pelos osteoblastos para ativar os osteoclastos. Estudos de reabsorção óssea *in vitro* mostraram que os osteoblastos devem estar presentes para que o PTH ative os osteoclastos e promova reabsorção óssea (Mcsheehy; Chambers, 1986; Zhao *et al.*, 1999).

Já no rim, principal órgão que regula a excreção e a reabsorção iônica, o PTH estimula a reabsorção de cálcio no túbulo distal, ativando canais iônicos específicos e aumenta a excreção de fosfato no túbulo proximal. Também aumenta a absorção intestinal de cálcio e fosfato, aumentando a produção de vitamina D ativada. A ativação da vitamina D, ou seja, a conversão de 25(OH)D em 1,25(OH)<sub>2</sub>D, ocorre no rim. Essa forma ativada de vitamina D (calcitriol) aumenta a absorção de cálcio iônico pelo intestino (Brenza *et al.*, 1998; Van Abel *et al.*, 2005). A 1,25(OH)<sub>2</sub>D inibe a transcrição do gene PTH e a proliferação de células da paratireoide. A transcrição do gene CaSR também pode ser regulada positivamente pela 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Dessa forma, o cálcio ionizado e a 1,25(OH)<sub>2</sub>D parecem agir em conjunto para regular o crescimento e a função das células da paratireoide (Russell; Lettieri; Sherwood, 1986; KREMER *et al.*, 1989).

#### 3.1.4.1 Hiperparatireoidismo

O hiperparatireoidismo pode ser caracterizado como disfunção primária, secundária e terciária. O hiperparatireoidismo primário refere-se a uma anormalidade na própria glândula paratireoide, como um adenoma ou hiperplasia, causando secreção excessiva da glândula (ALBRIGHT, 1948). O hiperparatireoidismo secundário refere-se à secreção excessiva compensatória de PTH em resposta a baixas concentrações de cálcio ionizado circulantes devido a outros processos patológicos, como insuficiência renal, má absorção gastrointestinal ou deficiência de vitamina D. Os valores laboratoriais diferem de acordo com a patologia subjacente. Na insuficiência renal crônica geralmente ocorre elevação de PTH, mas com diminuição do cálcio e aumento do fosfato. No contexto de má absorção e deficiência de vitamina D, o PTH também pode estar elevado, mas as concentrações de cálcio e fosfato são diminuídas (Silver; Levi, 2005; Van Der Plas *et al.*, 2020). O hiperparatireoidismo terciário é extremamente raro, mas é observado no contexto de

secreção contínua de PTH, mesmo após a resolução de uma condição de hiperparatireoidismo secundário (Van Der Plas *et al.*, 2020).

### 3.1.5 Vitamina D, PTH e obesidade

Alguns estudos mostraram uma relação inversa entre 25(OH)D e gordura corporal, um deles estimou que um aumento de 1 kg/m<sup>2</sup> no IMC estava associado a uma diminuição de 1,15% nas concentrações circulantes de 25(OH)D (Vimaleswaran *et al.*, 2013; Lespessailles; Toumi, 2017). Não há consenso quanto ao motivo, várias podem ser as causas. Isso poderia ser explicado pela ingestão alimentar inadequada ou pela exposição limitada da pele à luz solar, pela diminuição da mobilidade, pelo estigma social da obesidade, pelo estilo de vida sedentário e pela maior cobertura de roupas em comparação com indivíduos com peso considerado normal (Florez *et al.*, 2007; Kull; Kallikorm; Lember, 2009). Além disso, a doença hepática gordurosa não alcoólica pode diminuir a síntese de 25(OH)D pelo fígado; concentrações circulantes mais elevadas de leptina e IL-6 podem ter um potencial efeito inibitório na síntese de 25(OH)D (Targher *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2010).

A hipótese mais frequentemente invocada é a do sequestro de vitamina D pelos compartimentos de gordura corporal. Wortsman *et al.* descreveram essa hipótese e demonstraram que, embora a síntese de vitamina D não seja diferente entre portadores de obesidade e indivíduos com peso adequado, indivíduos com obesidade apresentam aumentos menores nas concentrações circulantes de 25(OH)D após suplementação oral de vitamina D ou exposição solar em comparação com indivíduos magros. Como a vitamina D é uma vitamina lipossolúvel, os autores propuseram que seu acúmulo nos adipócitos promove diminuição da sua biodisponibilidade em indivíduos com obesidade (Wortsman *et al.*, 2000). Porém, essa hipótese tem sido questionada por estudos mais recentes, que atribuíram baixas concentrações de vitamina D na obesidade à simples diluição volumétrica em maior volume tecidual devido ao aumento do peso e tamanho corporal (Walsh; Bowles; Evans, 2017). Carrelli *et al.* (2017) demonstraram que os estoques totais de vitamina D foram significativamente maiores na obesidade grave em comparação ao peso normal, embora a vitamina D sérica não tenha diferido entre os grupos. Além disso, foi demonstrado que não há diferença na vitamina D

circulante entre indivíduos com peso corporal normal e aumentado após ajuste do tamanho corporal (Drincic *et al.*, 2012). Apesar disso, novas evidências sugerem que a atividade metabólica do tecido adiposo é responsável pela redução da vitamina D em indivíduos com obesidade. Estudos recentes demonstraram que a obesidade está associada à diminuição da expressão de genes específicos que regulam o metabolismo da vitamina D. A redução da síntese enzimática responsável pela produção de 25(OH)D no tecido adiposo e no fígado em indivíduos com obesidade pode contribuir para baixas concentrações circulantes de vitamina D (Roizen *et al.*, 2019; Elkhwanky *et al.*, 2020).

A ligação entre a vitamina D e o PTH com síndrome metabólica é bem estabelecida. A relação entre as concentrações séricas de 25(OH)D e síndrome metabólica foi inversamente relacionada em diversos estudos (Ford *et al.*, 2005; FORD *et al.*, 2009; KIM, 2015). Em contrapartida, o PTH, que é considerado o principal regulador da homeostase do cálcio junto com a vitamina D, apresenta relação positiva com a resistência à insulina e o desenvolvimento de síndrome metabólica (Reis; Von Mühlen; Miller, 2008). Dessa forma, se baixas concentrações circulantes de vitamina D estiverem associadas à obesidade, deve-se esperar altas concentrações de PTH sérico. Neste contexto, a análise do metabolismo da vitamina D é importante após perda significativa de peso, principalmente após cirurgia bariátrica e a avaliação do papel do PTH como um possível mediador entre vitamina D, cálcio e obesidade se faz necessária.

## 3.2 METODOLOGIA

### 3.2.1 Seleção de participantes

Indivíduos com obesidade submetidos à cirurgia bariátrica por BGYR ou SG no período de agosto de 2014 a novembro de 2015 e de novembro de 2018 a novembro de 2019 no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC), em Florianópolis, Brasil, foram selecionados para o estudo. Todos os participantes cumpriram os critérios para cirurgia bariátrica estabelecidos pelo Ministério da Saúde (Ministério da Saúde, 2013). O grupo incluiu indivíduos com  $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$  ou  $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$  com comorbidades relacionadas ao peso. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado de Santa Catarina sob o nº 24279013.7.0000.0121 (Anexo 1) e os participantes foram informados verbalmente sobre o estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE, Anexo 2).

### 3.2.2 Coleta de dados e obtenção de soro

Informações sobre gênero, idade, IMC, comorbidades e uso de medicamentos foram obtidas nos prontuários de cada paciente. Amostras de sangue em jejum foram coletadas antes e um, três e seis meses após a cirurgia. O jejum foi definido como 10 horas ou mais desde a última refeição antes da coleta de sangue. Após a coleta de sangue total, o soro foi separado e acondicionado em microtubos a  $-80^\circ\text{C}$  até a análise.

A 25(OH)D e o PTH foram determinados por imunoquimioluminescência (Advia Centaur XP, Siemens, Berlim, Alemanha), enquanto cálcio, albumina, ureia e creatinina foram determinados por métodos enzimáticos (Dimension RXL Max, Siemens, Berlim, Alemanha). Além disso, como o valor do cálcio total representa a forma ligada às proteínas, boa parte a albumina, foram realizados dois tipos de correção do cálcio com base na albumina. A correção de Payne foi feita a partir da fórmula “Cálcio corrigido=Cálcio total+(4-ALB)” (PAYNE; LITTLE; WILLIAMS; MILNER, 1973), enquanto na correção de Ohba foi utilizada a fórmula “Cálcio corrigido=cálcio total+0,7X (4- ALB)” (TANAKA; TAKAHASHI; UMEMORI; ASANUMA *et al.*, 2016).

### 3.2.3 Uso de medicamentos

O sistema de classificação anatômico-terapêutico-químico (ATC) é um esquema de classificação de medicamentos recomendado pela OMS e amplamente aceito. Este sistema compreende cinco classificações e inclui várias classes em cada classificação. As substâncias ativas dividem-se em diferentes grupos de acordo com o órgão ou sistema sobre o qual atuam e as suas propriedades terapêuticas, farmacológicas e químicas. Neste estudo, os medicamentos foram categorizados de acordo com a classificação ATC (Chen *et al.*, 2012). Foi considerada polifarmácia a prescrição concomitante de  $\geq 5$  medicamentos.

### 3.2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados e ilustrados usando GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Para avaliar a simetria das variáveis foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. O teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliar as alterações antes e após a cirurgia e o teste U de Mann-Whitney foi utilizado para avaliar as diferenças entre os grupos (BGYR vs. SG). As correlações foram feitas pelo teste de Spearman. Considerou-se  $p \leq 0,05$  para indicar significância estatística.



### 3.3 RESULTADOS

#### 3.3.1 Características individuais e resultados clínicos

A casuística foi composta por um grupo de 82 participantes com obesidade grave submetidos à cirurgia bariátrica. A maior parte do grupo era do sexo feminino (68 indivíduos; 83%), com mediana de idade de 43 anos e mediana de IMC de 48 kg/m<sup>2</sup>. O BGYR foi o tipo de procedimento mais realizado (79,3%), seguido de SG (20,7%). Antes da cirurgia, a hipertensão era a comorbidade mais frequente (70,7%), seguida de ansiedade e depressão (58,5%), DM2 (56,1%) e dislipidemia (46,3%). No início do estudo, 26,8% dos pacientes faziam uso de medicamentos da classe “A02 Medicamentos para distúrbios relacionados à acidez”. No final, apenas 19,5% continuaram a utilizá-lo. Para a classe “A10 Medicamentos utilizados no diabetes” a utilização foi de 52,4% no início e 24,3% no final. Para o grupo “A11 Vitaminas”, o uso foi de 47,6% no início e 84,1% no final. Em relação aos “B01 Antitrombóticos” a utilização foi de 14,6% no início e 7,3% no final. Para os “C02A Agentes antiadrenérgicos de ação central”, foi de 2,4% no início e nenhum no final. 40,2% dos participantes faziam uso de “C03 Diuréticos” no início e 18,3% no final. Para os “C07 Agentes beta bloqueadores” a utilização foi de 45,1% no início e 11% no final. Para os “C08 Bloqueadores dos canais de cálcio” foi de 26,8% para 12,1%. Para os “C09 Agentes do sistema renina-angiotensina” foi de 71,9% para 46,3%. Para o grupo “C10 Agentes modificadores de lipídios” foi de 63,4% para 46,3%. Para “H03 Terapia para tireoide” foi de 26,8% para 21,9% e “N06A Antidepressivos” de 64,6% para 58,5%. Além disso, o percentual de polifarmácia antes da cirurgia era de 71,9% e no final do acompanhamento foi de 51,2%. Esses resultados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Características da população do estudo antes da intervenção cirúrgica.

<b>N</b>	82
<b>Feminino – No. (%)</b>	68 (83)
<b>Masculino – No. (%)</b>	14 (17)
<b>Idade mediana (anos) [intervalo]</b>	43 [21 – 62]
<b>IMC mediano (kg/m<sup>2</sup>) [intervalo]</b>	48 [34 – 71]

<b>BGYR – No. (%)</b>	65 (79,3)
<b>SG – No. (%)</b>	17 (20,7)
<b>Ansiedade e depressão – No. (%)</b>	48 (58,5)
<b>Dislipidemia – No. (%)</b>	38 (46,3)
<b>Hipertensão – No. (%)</b>	58 (70,7)
<b>DM2 – No. (%)</b>	46 (56,1)
<b>Classes de medicamentos</b>	
A02 Medicamentos para distúrbios relacionados à acidez – No. (%)	22 (26,8)
A10 Medicamentos utilizados no diabetes – No. (%)	43 (52,4)
A11 Vitaminas – No. (%)	39 (47,6)
B01 Agentes antitrombóticos – No. (%)	12 (14,6)
C02A Agentes antiadrenérgicos de ação central – No. (%)	2 (2,4)
C03 Diuréticos – No. (%)	33 (40,2)
C07 Agentes beta bloqueadores – No. (%)	37 (45,1)
C08 Bloqueadores dos canais de cálcio – No. (%)	22 (26,8)
C09 Agentes do sistema renina-angiotensina – No. (%)	59 (71,9)
C10 Agentes modificadores de lipídeos – No. (%)	52 (63,4)
H03 Terapia para tireoide – No. (%)	22 (26,8)
N06A Antidepressivos – No. (%)	53 (64,6)
<b>Polifarmácia – No. (%)</b>	59 (71,9)

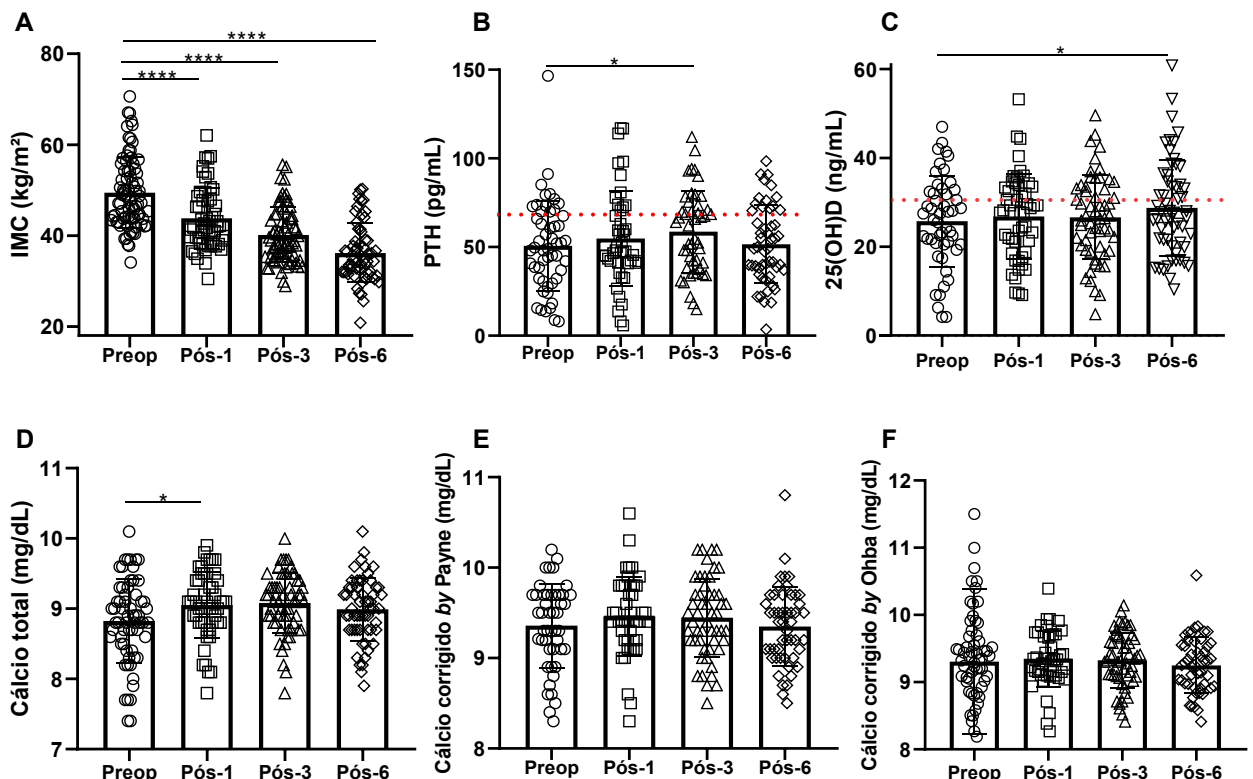
IMC índice de massa corporal; BGYR bypass gástrico em Y de Roux; SG gastrectomia vertical; DM2 diabetes mellitus tipo 2.

### 3.3.2 IMC, 25(OH)D, cálcio e PTH

A mediana do IMC pré-operatório foi de 48 kg/m<sup>2</sup>, seguido de 42 kg/m<sup>2</sup> no primeiro mês de pós-operatório, 39 kg/m<sup>2</sup> no terceiro e ao final do acompanhamento, seis meses depois, diminuiu para 34 kg/m<sup>2</sup> (p<0,0001). Comparado com o pré-operatório, o PTH apresentou aumento significativo apenas no terceiro mês de pós-operatório (mediana 49 vs. 62, p=0,0195). Em relação a 25(OH)D, houve discreto aumento da mediana em todos os pós-operatórios. Porém, esse aumento só foi

significativo no final do seguimento ( $p=0,0425$ ). Mesmo após seis meses, cerca de 50% dos participantes não atingiram concentrações de 25(OH)D acima de 30 ng/mL. Em relação ao pré-operatório, o cálcio total apresentou aumento significativo no primeiro mês de acompanhamento (pré-operatório vs. 1 mês  $p=0,0098$ ). Entretanto, quando o cálcio total foi corrigido para albumina pelas correções de Payne e Ohba, não foram observadas diferenças entre os períodos. Esses resultados são mostrados na Figura 1.

Figura 1 - IMC, 25(OH)D, cálcio e PTH após cirurgia bariátrica.



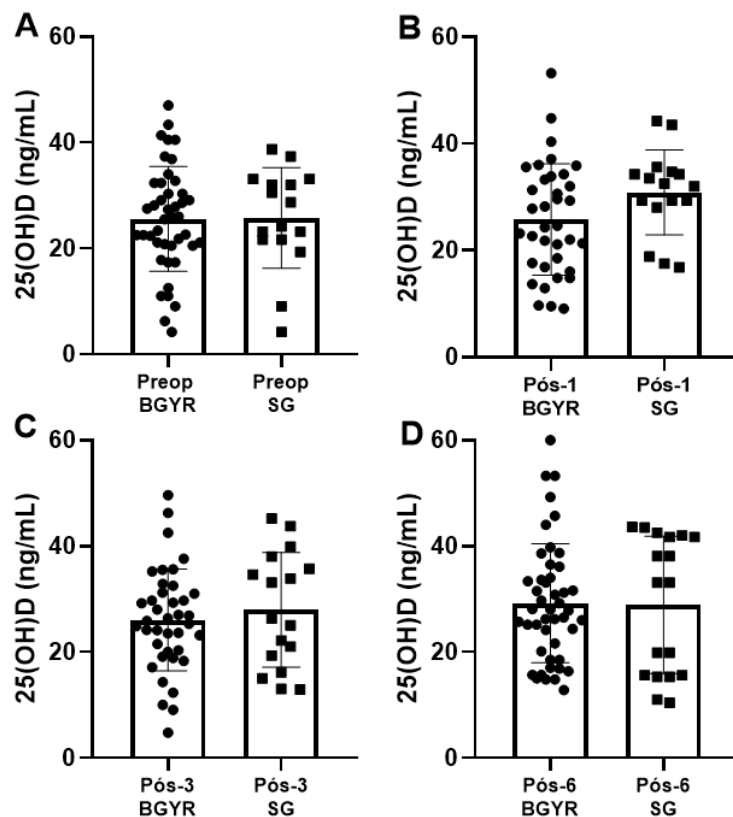
A: IMC. B: PTH. C: 25(OH)D. D: Cálcio total. E e F: Cálcio corrigido por Payne e Ohba antes, 1, 3 e 6 meses após a cirurgia bariátrica, respectivamente. Nos gráficos B e C, as linhas tracejadas indicam as concentrações de 70 pg/mL e 30 ng/mL, respectivamente. IMC índice de massa corporal; 25(OH)D 25-hidroxivitamina D; PTH hormônio da paratireoide; Preop Pré-operatório; Pós-1 1 mês pós-operatório; Pós-3 3 meses pós-operatório; Pós-6 6 meses pós-operatório. Valores de referência: PTH (11-70 pg/mL); 25(OH)D (30-100 ng/mL); Cálcio total (8,5-10,1 mg/dL). Os valores de  $*p<0,05$  e  $****p<0,0001$  foram considerados estatisticamente significativos, usando o teste de Wilcoxon.

### 3.3.3 Comparação de técnicas cirúrgicas

A mediana de 25(OH)D foi 26 ng/mL, tanto para o grupo de participantes submetidos ao BGYR quanto para o SG. No primeiro mês a mediana foi de 24 ng/mL para BGYR e 33 ng/mL para SG. No terceiro mês, 26 ng/mL para o BGYR e 34 ng/mL para o SG. E no sexto, 28 ng/mL vs. 33 ng/mL, respectivamente. Já para o

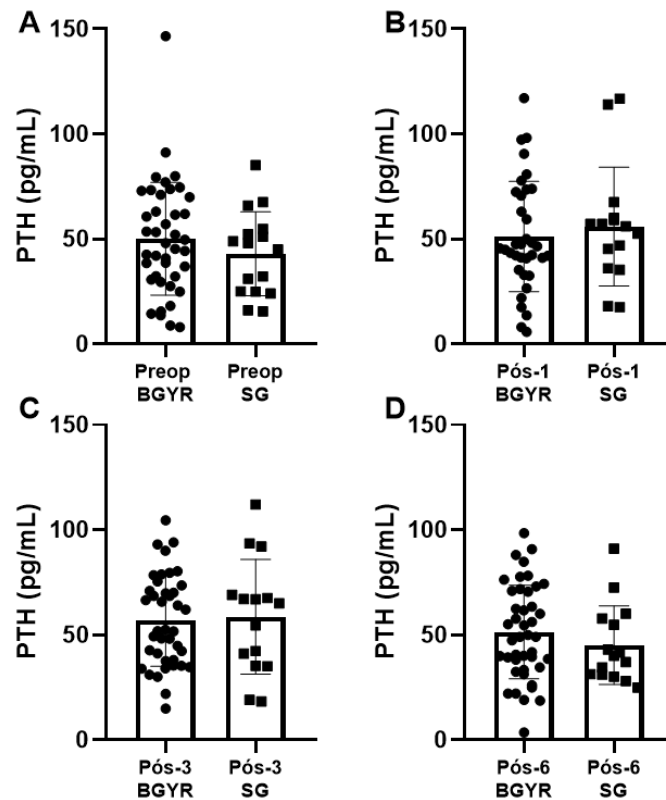
PTH, a mediana foi de 48 pg/mL e 46 pg/mL, para o grupo de participantes que realizaram BGYR e SG, respectivamente. No primeiro mês foi de 45 pg/mL para BGYR e 56 pg/mL para SG. No terceiro, 52 pg/mL para o BGYR e 65 pg/mL para o SG. E no sexto, 49 pg/mL vs. 40 pg/mL, respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas em nenhum período de seguimento nos dois grupos, bem como entre as diferentes técnicas cirúrgicas. Esses resultados são mostrados nas Figuras 2 e 3.

Figura 2 - Concentrações de 25(OH)D nos grupos BGYR e SG.



25(OH)D nos grupos BGYR e SG no: pré-operatório (A), 1 mês pós-operatório (B); 3 meses pós-operatório (C) e 6 meses pós-operatório (D). 25(OH)D 25-hidroxivitamina D; BGYR bypass gástrico em Y de Roux; SG gastrectomia vertical; Preop Pré-operatório; Pós-1 1 mês pós-operatório; Pós-3 3 meses pós-operatório; Pós-6 6 meses pós-operatório. Valor de referência: 25(OH)D (30-100 ng/mL). Teste U de Mann-Whitney.

Figura 3 - Concentrações de PTH nos grupos BGYR e SG.



PTH nos grupos BGYR e SG no: pré-operatório (A), 1 mês pós-operatório (B); 3 meses pós-operatório (C) e 6 meses pós-operatório (D). PTH hormônio da paratireoide. BGYR bypass gástrico em Y de Roux; SG gastrectomia vertical; Preop Pré-operatório; Pós-1 1 mês pós-operatório; Pós-3 3 meses pós-operatório; Pós-6 6 meses pós-operatório. Valor de referência: PTH (11-70 pg/mL). Teste U de Mann-Whitney.

### 3.3.4 Análise de PTH elevado e 25(OH)D diminuída

Os participantes que apresentaram baixas concentrações de 25(OH)D e altas concentrações de PTH antes do procedimento cirúrgico foram avaliados isoladamente. Em relação ao PTH, 12 participantes apresentaram concentrações acima de 70 pg/mL. Observou-se que esses participantes continuaram com concentrações elevadas em todos os períodos de acompanhamento pós-cirúrgico. No pré-operatório, a mediana do PTH desses pacientes foi de 77, seguida de 63 no primeiro mês, 78 no terceiro mês e 72 no final do acompanhamento. Todos esses indivíduos tinham concentrações de cálcio quase normais e concentrações baixas de 25(OH)D. Nenhum dos participantes apresentou comprometimento da função renal, conforme evidenciado pelas concentrações normais de creatinina e ureia. Esses resultados são apresentados na Tabela 2. Na análise da 25(OH)D, 25 pacientes foram submetidos à cirurgia bariátrica com valores circulantes desse analito abaixo do recomendado para esse grupo. No pré-operatório e no primeiro

mês, a mediana de 25(OH)D desses pacientes foi de 22, seguida de 26 no terceiro e sexto meses. Indivíduos com deficiência de 25(OH)D também apresentavam concentrações de cálcio quase normais e concentrações elevadas de PTH. Nenhum desses indivíduos apresentou concentrações de ureia e creatinina fora dos valores de referência. Esses resultados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 2 - Análise de participantes com PTH elevado.

	<b>Preop</b>	<b>Pós-1</b>	<b>Pós-3</b>	<b>Pós-6</b>
<b>PTH (pg/mL)</b>	77 (71 – 147)	63 (45 – 91)	78 (49 – 93)	72 (40 – 98)
<b>Cálcio total (mg/dL)</b>	9 (8,3 – 9,7)	9,4 (8,8 – 9,9)	8,9 (8,4 – 9,7)	8,9 (8,5 – 9,7)
<b>25(OH)D (ng/mL)</b>	29 (12 – 40)	31 (13 – 53)	31 (16 – 50)	28 (20 – 49)
<b>Ureia (mg/dL)</b>	29 (16 – 42)	22 (18 – 34)	27 (16 – 42)	32,5 (22 – 43)
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0,9 (0,5 – 1,3)	0,9 (0,7 – 1,3)	0,8 (0,6 – 0,9)	0,8 (0,5 – 1)

N=12, PTH hormônio da paratireoide, 25(OH)D 25-hidroxivitamina D; Preop Pré-operatório; Pós-1 1 mês pós-operatório; Pós-3 3 meses pós-operatório; Pós-6 6 meses pós-operatório. Valores de referência: PTH (11-70 pg/mL); 25(OH)D (30-100 ng/mL); Cálcio total (8,5-10,1 mg/dL); Ureia (15-39 mg/dL); Creatinina (0,6-1,3 mg/dL). Todos os resultados apresentados como medianas seguidas de valores mínimo e máximo.

Tabela 3 - Análise de participantes com baixas concentrações de 25(OH)D.

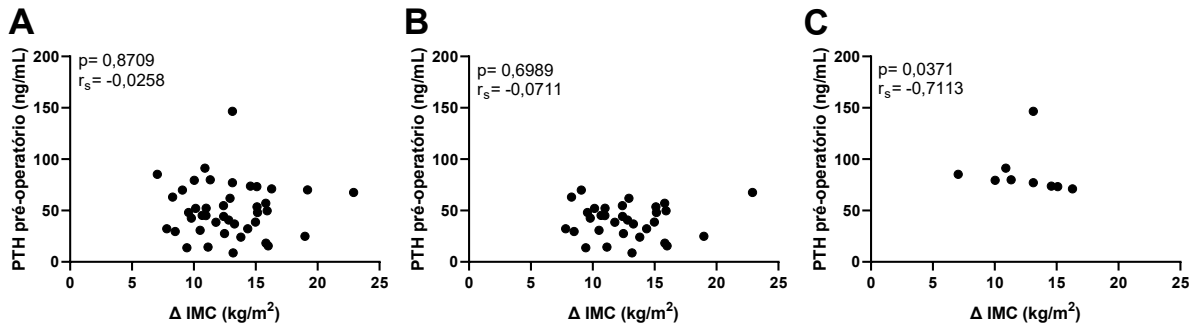
	<b>Preop</b>	<b>Pós-1</b>	<b>Pós-3</b>	<b>Pós-6</b>
<b>25(OH)D (ng/mL)</b>	22 (4 – 29)	22 (9 – 40)	26 (5 – 50)	26 (15 – 49)
<b>Cálcio total (mg/dL)</b>	8,9 (7,7 – 10,1)	9,1 (8,1 – 9,8)	9,2 (8,4 – 9,7)	9,2 (7,9 – 9,8)
<b>PTH (ng/mL)</b>	49 (8 – 147)	50 (8 – 117)	68 (18 – 112)	55 (19 – 98)
<b>Ureia (mg/dL)</b>	28,5 (14 – 49)	23 (17 – 47)	32 (16 – 32)	31 (18 – 47)
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0,8 (0,5 – 1,4)	1 (0,7 – 1,6)	0,8 (0,6 – 1,3)	0,75 (0,6 – 1,2)

N=25, 25(OH)D 25-hidroxivitamina D, PTH hormônio da paratireoide; Preop Pré-operatório; Pós-1 1 mês pós-operatório; Pós-3 3 meses pós-operatório; Pós-6 6 meses pós-operatório. Valores de referência: PTH (11-70 pg/mL); 25(OH)D (30-100 ng/mL); Cálcio total (8,5-10,1 mg/dL); Ureia (15-39 mg/dL); Creatinina (0,6-1,3 mg/dL). Todos os resultados apresentados como medianas seguidas de valores mínimo e máximo.

A fim de verificar a contribuição dos valores de PTH e vitamina D na perda de peso, foram realizadas correlações entre a variação do IMC antes do procedimento e após seis meses ( $\Delta$  IMC) e os valores de PTH e vitamina D no pré-operatório. Quando foram analisados todos os participantes, não foi encontrada correlação

entre o  $\Delta$  IMC e os valores de PTH (figura 4A). Quando os grupos foram estratificados, no grupo de indivíduos com PTH abaixo de 70 pg/mL, os valores desse analito não foram correlacionados com a perda de peso (figura 4B). Entretanto, entre os participantes que tinham PTH maior de 70 pg/mL antes do procedimento cirúrgico, foi encontrada uma correlação negativa entre os valores (figura 4C). Ou seja, entre os participantes com hiperparatireoidismo, quanto maior o PTH no pré-operatório, menor a perda de peso após seis meses. Para a vitamina D não foi encontrada correlação.

Figura 4 - Concentrações de PTH pré-operatório e perda de peso.



Correlação entre PTH e perda de peso em todos os participantes (A), nos participantes com PTH < 70 pg/mL (B) e nos participantes com PTH > 70 pg/mL (C). IMC índice de massa corporal; PTH hormônio da paratireoide; Valor de referência: PTH (11-70 pg/mL). O valor de  $*p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo, usando a correlação de Spearman.

### 3.4 DISCUSSÃO

As principais comorbidades observadas em pacientes com obesidade presentes neste estudo estão de acordo com aquelas observadas em outros estudos realizados mundialmente. Hipertensão, diabetes e pré-diabetes, dislipidemia, ansiedade e depressão são comorbidades frequentemente presentes em estudos com indivíduos com obesidade. Estudos anteriores com pacientes com obesidade grave ( $IMC > 40\text{kg/m}^2$ ) submetidos à cirurgia bariátrica também mostraram alta prevalência dessas comorbidades (Hayden *et al.*, 2011; Petasne *et al.*, 2013; Pantalone *et al.*, 2017).

Pacientes com múltiplas doenças crônicas, como os dessa coorte, necessitam fazer uso de diversos medicamentos. No presente estudo, pacientes com obesidade antes da cirurgia bariátrica apresentavam comorbidades associadas e alta prevalência de polifarmácia em seus esquemas terapêuticos. Isto está de acordo com um estudo que demonstrou que a obesidade estava associada à polifarmácia, e esta associação se devia principalmente ao aumento do risco de multimorbidade em indivíduos com obesidade (Assari; Wisseh; Bazargan, 2019). A análise do perfil farmacoterapêutico basal dos pacientes demonstrou que as principais classes terapêuticas prescritas foram aquelas utilizadas para manejo de comorbidades. Antidepressivos, anti-hipertensivos, hipoglicemiantes orais e medicamentos hipolipemiantes foram classes de medicamentos frequentemente encontradas no acompanhamento farmacoterapêutico de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica (Assari; Wisseh; Bazargan, 2019; Schauer *et al.*, 2012; Schiavon *et al.*, 2018). O tratamento cirúrgico promoveu mudanças na farmacoterapia destes participantes. Alterações anatômicas e fisiológicas promovidas pela cirurgia bariátrica podem resultar em alteração na farmacocinética dos medicamentos em uso (Bland *et al.*, 2016). Neste estudo, após seis meses, houve diminuição no percentual de pacientes com polifarmácia e no uso de todas as classes medicamentosas relatadas.

Por outro lado, houve aumento na prescrição de suplementos vitamínicos neste estudo. Procedimentos cirúrgicos que levam à restrição alimentar e má absorção podem resultar em deficiências de micronutrientes (Syn *et al.*, 2020). A suplementação multivitamínica e mineral é recomendada para pacientes submetidos à cirurgia bariátrica. Diretrizes para suplementação de micronutrientes (vitamina D, ferro, cálcio e vitamina B12) estão disponíveis e podem variar dependendo do tipo



de procedimento realizado (Mechanick *et al.*, 2013; Mingrone; Bornstein; Le Roux, 2018).

Como esperado, neste estudo foi observada acentuada perda de peso após a cirurgia bariátrica. Além disso, um ligeiro aumento nas concentrações de 25(OH)D foi observada seis meses após o procedimento. Para o PTH, discreto aumento foi observado no terceiro mês de pós-operatório e para o cálcio total, no primeiro mês. Contudo, quando o cálcio foi corrigido para a albumina, esta diminuição significativa foi perdida. Ao comparar os tipos cirúrgicos (BGYR vs. SG), embora não tenha sido encontrada diferença significativa, observamos mediana de 25(OH)D maior para o grupo submetido à técnica de SG em todos os períodos pós-operatórios. Quanto ao PTH, a mediana foi maior no grupo SG no primeiro e terceiro meses, e menor no sexto mês. Este achado apoia a superioridade do SG sobre o BGYR na prevenção da deficiência de micronutrientes (Vix *et al.*, 2014; Ignat *et al.*, 2017). Entretanto, no Brasil, especialmente no hospital estudado, a porcentagem de realização da de técnica de BGYR supera o SG (79,3 vs. 20,3%, respectivamente).

Portanto, os pacientes submetidos à cirurgia bariátrica mesmo com concentrações de 25(OH)D abaixo do recomendado e concentrações de PTH elevadas foram avaliados. Pôde-se observar que 25 (30,5%) participantes foram submetidos ao procedimento bariátrico com concentrações de 25(OH)D abaixo do recomendado para esse grupo de pacientes e 12 (14,6%) participantes foram operados com concentrações de PTH acima do valor de referência. O PTH serve como regulador primário do cálcio sérico. O PTH atua diretamente através de seus tecidos alvo, ossos e rins, para aumentar a liberação de cálcio dos estoques ósseos e diminuir a excreção de cálcio, e através da ativação da vitamina D atua indiretamente para aumentar a absorção intestinal de cálcio. O PTH e a vitamina D formam um ciclo de feedback rigidamente controlado, sendo o PTH um importante estimulador da síntese de vitamina D, enquanto a vitamina D exerce feedback negativo sobre a secreção de PTH. O aumento do PTH afeta a mobilização do cálcio esquelético, visando manter um estado de normocalcemia. Por autorregulação, um hiperparatireoidismo secundário pode ser capaz de manter as concentrações normais de cálcio (Khundmiri; Murray; Lederer, 2016). Estudos anteriores também encontraram concentrações normais de cálcio em pacientes após cirurgia bariátrica, apesar da alta incidência de deficiência de vitamina D e hiperparatireoidismo secundário nesses pacientes. (Karefylakis *et al.*, 2014; Casella *et al.*, 2018).

Ainda, em estudos prévios, o IMC estava fortemente associado às concentrações plasmáticas de 25(OH)D e PTH e o PTH sérico foi considerado um preditor independente de obesidade (Kamycheva; Sundsfjord; Jorde, 2004; Guasch *et al.*, 2012). Dessa forma, em relação à perda de peso, foram realizadas correlações entre as concentrações de PTH e vitamina D com o  $\Delta$  IMC. Os resultados revelaram que, ao considerar todos os participantes, não houve correlação discernível entre o  $\Delta$  IMC e os valores pré-operatórios de PTH. No entanto, ao estratificar os participantes com base nos valores pré-operatórios de PTH (superiores a 70 pg/mL), foi observada uma correlação negativa. Este achado sugere que em participantes com hiperparatireoidismo, concentrações mais elevadas de PTH no pré-operatório foram associadas a menor perda de peso seis meses após a cirurgia. Em contraste, a nossa análise não revelou qualquer correlação significativa entre os valores de vitamina D e a perda de peso.

As diretrizes da Sociedade Americana de Cirurgia Bariátrica e Metabólica recomendam que uma dosagem de vitamina D de pelo menos 3.000 UI/dia e uma dosagem de cálcio de pelo menos 1.200 mg/dia sejam necessárias para pacientes bariátricos (Mechanick *et al.*, 2013). A maioria dos pacientes acompanhados neste estudo estava recebendo suplementação inadequada, ou seja, utilizando compostos multivitamínicos contendo 200 UI de vitamina D e 300 mg de cálcio diariamente. Poucos pacientes receberam indicação de 25.000 UI adicionais de vitamina D semanalmente e 500 mg de cálcio diariamente.

Estudos anteriores sugerem que a cirurgia bariátrica estava significativamente associada a um risco aumentado de fratura óssea e osteoporose, particularmente com procedimentos de *bypass* (Lu *et al.*, 2015; Ikramuddin *et al.*, 2015; Saad *et al.*, 2022). O hiperparatireoidismo secundário é uma condição clínica relacionada à obesidade grave, portanto necessita ser estabilizado antes da cirurgia (Levinson *et al.*, 2013). Concentrações elevadas de PTH antes e depois da cirurgia bariátrica podem ser um determinante de problemas de saúde óssea a longo prazo. Portanto, há necessidade de melhor avaliação desses pacientes antes da cirurgia bariátrica, bem como de um protocolo mais robusto de suplementação de micronutrientes antes e após o procedimento cirúrgico.

Com base nos resultados encontrados, o presente capítulo ressalta os desafios persistentes das deficiências de micronutrientes, particularmente de vitamina D, em indivíduos com obesidade grave submetidos à cirurgia bariátrica. A

elevação sustentada das concentrações de PTH observada em um subconjunto de participantes destaca a necessidade de monitoramento pós-operatório. Notavelmente, a técnica cirúrgica, especificamente o SG, demonstrou vantagens potenciais na prevenção de deficiências de micronutrientes. A análise abrangente do uso de medicamentos revelou uma redução significativa na polifarmácia no pós-operatório, indicando um impacto positivo na saúde metabólica geral. Esses achados enfatizam a importância da avaliação pré-operatória e do monitoramento em longo prazo para otimizar o bem-estar dos indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica.

## 4 CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO DE RISCO CARDIOVASCULAR NO PÓS-OPERATÓRIO IMEDIATO DE CIRURGIA BARIÁTRICA

### 4.1 REVISÃO DA LITERATURA

A obesidade e o sobrepeso são caracterizados como acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode comprometer a saúde. O IMC elevado é um importante fator de risco para doenças não transmissíveis, como dislipidemia e doenças cardiovasculares e está associado a um risco aumentado de mortalidade cardiovascular (SMITH; SMITH, 2016). Neste contexto, o tecido adiposo tem sido descrito como um órgão endócrino e imunológico ativo, que armazena a maior quantidade de lipídios corporais, incluindo TG e colesterol livre. Na obesidade, o acúmulo excessivo de tecido adiposo e a hipertrofia de adipócitos podem promover efeitos patogênicos, resultando em concentrações anormais de lipídios circulantes (Bays, 2011).

Cerca de 60% dos portadores de obesidade grave apresentam alguma forma de dislipidemia (Buchwald *et al.*, 2004). Nestes casos, a dislipidemia aterogênica é caracterizada por concentrações séricas aumentadas de TG, diminuídas de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e concentrações quase dentro da normalidade de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), além de uma proporção aumentada de partículas de LDL pequena e densa (Poirier *et al.*, 2011).

A hipertrigliceridemia associada à obesidade envolve alterações metabólicas em todas as lipoproteínas ricas em TG, como quilomícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e seus remanescentes. O aumento da secreção de quilomícrons, a superprodução de partículas de VLDL ricas em TG pelo fígado e a alteração da remoção de lipoproteínas ricas em TG contribuem para aumentar as lipoproteínas ricas em TG circulantes (Dash; Xiao; Lewis, 2016). O aumento da produção e secreção de partículas ricas em TG inicia uma sequência de distúrbios metabólicos, aumentando a quantidade de remanescentes de lipoproteínas ricas em TG aterogênicos circulantes, convertendo LDL em partículas aterogênicas menores e mais densas e influenciando o metabolismo de partículas de HDL (Björnson *et al.*, 2017). Sendo assim, a obesidade e a expansão patológica do tecido adiposo afetam o metabolismo de lipoproteínas ricas em TG e a funcionalidade e eficácia das

partículas de HDL (Rashid; Genest, 2007). Alterações na atividade da lipoproteína lipase (LPL), a alteração da composição de apolipoproteínas de lipoproteínas ricas em TG e as desordens na captação de lipoproteínas ricas em TG e seus remanescentes pelo fígado podem ajudar a explicar o processo de dislipidemia aterogênica na obesidade (Hodson, 2019).

Está bem estabelecido que baixas concentrações de HDL-C são um preditor de risco independente de doença coronariana e há uma forte associação inversa entre as concentrações de HDL-C circulantes e a incidência de eventos de doença coronariana (Castelli, 1988). Osto *et al.* encontraram anormalidades nas partículas de HDL de indivíduos com obesidade que poderiam ser comparadas a um perfil de subpopulação de HDL de indivíduos com doença cardiovascular estabelecida (Osto *et al.*, 2015).

O tratamento da obesidade grave por meio de intervenções farmacológicas ou de estilo de vida, como reeducação alimentar e exercícios físicos, pode ser insuficiente para induzir perda sustentada de peso e remissão duradoura de condições metabólicas e comorbidades. Por outro lado, uma perda de peso pronunciada e duradoura associada à melhora da condição metabólica da obesidade, incluindo a dislipidemia, é possível com a cirurgia bariátrica (Poirier *et al.*, 2011; Chacon *et al.*, 2022). A recuperação metabólica após a cirurgia bariátrica está associada à diminuição da mortalidade geral, induzida pela redução da mortalidade cardiovascular (Adams *et al.*, 2015). Estudos de acompanhamento de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica mostraram concentrações de TG em jejum e pós-prandiais notavelmente reduzidas, concentrações de HDL-C aumentadas e alterações ateroprotetoras na composição e função das partículas de LDL e HDL após o procedimento (Buchwald *et al.*, 2004; Piché *et al.*, 2015).

Para avaliação de risco cardiovascular, o uso de índices é bastante difundido. Os índices são frequentemente preditores mais poderosos do risco coronário do que outras medidas utilizadas separadamente. É comum a utilização dos índices de risco Castelli-I e -II e da relação TG/HDL-C. O índice de risco Castelli-I, também conhecido como razão de risco cardíaco, pode refletir a formação de placas coronárias com valor diagnóstico tão bom quanto a determinação do colesterol total (Cai *et al.*, 2017; Olamoyegun; Oluyombo; Asaolu, 2016), enquanto o índice de risco Castelli-II é utilizado como um bom preditor de risco cardiovascular (Millán *et al.*, 2009). Por fim, a relação TG/HDL-C tem sido correlacionada com

resistência à insulina e predição de infarto agudo do miocárdio (Ray *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2016).

#### 4.1.2 Lipoproteínas e metabolismo lipídico

As lipoproteínas são estruturas responsáveis pelo transporte dos lipídeos no plasma. A presença dessas estruturas é essencial para o transporte de substâncias insolúveis em água - como colesterol, ésteres de colesterol e TG - entre diferentes tecidos. Essas estruturas são macroagregados moleculares esféricos com núcleo hidrofóbico contendo principalmente colesterol esterificado e TG cercado por monocamada de fosfolipídios, lipídeos anfifílicos e proteínas. Essas proteínas são denominadas apolipoproteínas, “apo” significa “destacado” ou “separado”, designando a proteína em sua forma livre de lipídeos (EISENBERG *et al.*, 1984).

As lipoproteínas podem ser classificadas com base na sua densidade e mobilidade eletroforética. As ricas em TG, maiores e menos densas, são representadas pelos quilomícrons, de origem intestinal, e pelas VLDL, de origem hepática. As intermediárias compreendem as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), e a lipoproteína (a) [Lp(a)], que é o resultado de uma ligação covalente de uma partícula de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) à apolipoproteína (a). E as LDL e lipoproteínas de alta densidade (HDL), ricas em colesterol (CHAPMAN *et al.*, 1981).

O metabolismo das lipoproteínas envolve processos complexos que regulam o transporte e o metabolismo dos lipídeos. Inicialmente as lipases pancreáticas medeiam a hidrólise dos TG da dieta em ácidos graxos (AG) livres, monoglicerídeos e diglicerídeos. Os sais biliares promovem a emulsificação desses lipídeos em micelas. Os lipídeos menos complexos são absorvidos passivamente pelos enterócitos, onde ocorre a síntese quilomícrons, que são as maiores e menos densas lipoproteínas. Essas estruturas são constituídas pelas apolipoproteína B48 (apoB48), apolipoproteína A1 (apoA1) e apolipoproteína E (apoE) e são ricas em TG. Na circulação sistêmica, a LPL hidrolisa os quilomícrons liberando AG. Essa hidrólise resulta na formação de remanescentes de quilomícrons, enriquecidos com ApoE. Esses remanescentes posteriormente são captados pelos receptores de LDL presentes nos hepatócitos (Eckel, 1989).

O fígado também sintetiza VLDL, que são ricas em TG e contêm apolipoproteína B100 (apoB100) como apolipoproteína estrutural. A apoB100 está presente nas lipoproteínas das classes VLDL, IDL e LDL. Assim como os quilomícrons, as VLDL são afetadas pela ação da LPL, resultando na liberação de AG. Dessa forma, os remanescentes de VLDL são denominados IDL. Uma fração da IDL plasmática é prontamente removida pelo fígado, enquanto a fração não removida sofre lipólise adicional, resultando em alterações de composição, com perdas de todas as apolipoproteínas, exceto a apoB100, e das propriedades físicas da lipoproteína, que passa a ser chamada de LDL (Havel, 1984). A LDL normalmente transporta cerca de dois terços do conteúdo de colesterol plasmático. O colesterol fornecido pela LDL aos tecidos extra-hepáticos é utilizado na síntese de hormônios esteroides no córtex adrenal e nas gônadas, na síntese de membranas e na síntese de VLDL no fígado (Brown; Goldstein, 1986).

Após perderem TG, tanto os quilomícrons quanto as VLDL liberam fosfolipídios, colesterol e apoA1, que se organizam em estruturas discoidais. A enzima lecitina-colesteril-acil transferase (LCAT) age sobre essas estruturas, resultando na formação da HDL. Quando comparada as demais lipoproteínas, a fração lipoproteica caracterizada como HDL apresenta o menor tamanho e maior densidade. As partículas de HDL possuem núcleo lipofílico majoritariamente composto por ésteres de colesterol, pequenas quantidades de TG e colesterol não-esterificado. Ao redor do núcleo há uma camada monofosfática de fosfolipídios, colesterol não esterificado e as apolipoproteínas (Pownall *et al.*, 2021).

A proteína mais abundante encontrada nessa lipoproteína é a apoA1, representando aproximadamente 70% da fração proteica da HDL. Acredita-se que, em média, existam 3 a 4 cópias de apoA1 por partícula de HDL (Huang *et al.*, 2011; Hutchins *et al.*, 2014). A apoA1 é encontrada em todas as subfrações dessa lipoproteína. Além disso, 20% da fração proteica da HDL é constituída pela apolipoproteína AII (apoAII) e 10% de quantidades variáveis das apolipoproteínas CI, CII, CIII, D e E (Nelson; Cox, 2014; Pownall *et al.*, 2021).

Além das apolipoproteínas, o conteúdo proteico também inclui a presença de enzimas como a paraoxonase-1 (PON1), LCAT e acetil hidrolase do fator de plaquetas (PAF-AH) (Shah *et al.*, 2013). Em conjunto, tem-se a presença de proteínas de fase aguda, como proteínas antioxidantes, proteínas de transferência como a proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP), proteínas

inibidoras de serina proteases, componentes do sistema complemento, entre outras. Contudo, o proteoma não é o único responsável pelos efeitos biológicos da HDL. O lipidoma, em particular os fosfolipídios carregados negativamente, é importante para os vários efeitos da HDL, como as propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antiapoptóticas ou promotoras de efluxo (Camont *et al.*, 2013; Filippatos; Kei; Elisaf, 2017). Por fim, a HDL apresenta em seu interior um núcleo lipofílico composto de ésteres de colesterol que corresponde a aproximadamente 15 a 20% do seu conteúdo e 3 a 5% de colesterol (Barter *et al.*, 2003).

É bem estabelecido que as concentrações plasmáticas HDL-C são inversamente proporcionais ao risco de doença arterial coronariana (Assmann; Nofer, 2003). A HDL é um constituinte fundamental no transporte reverso do colesterol, um processo de múltiplas etapas que remove o excesso de colesterol de outras lipoproteínas dos tecidos periféricos, transporta-os para o fígado para posterior excreção ou reciclagem via HDL. Esse processo envolve diversas etapas, como a transferência de fosfolipídios e colesterol para as partículas de HDL pelo processo dependente de ABCA-1 (do inglês, *ATP-binding cassette transporter A1*) que resulta na formação das HDL discoidais; a esterificação do colesterol da HDL discoidal mediada pela enzima LCAT; a interação das HDL esféricas com a CETP e o retorno dos ésteres de colesterol para o fígado via HDL (Nelson; Cox, 2014).

As proteínas apoA1 e apoAII são parte constituinte do processo de montagem das partículas de HDL e são majoritariamente sintetizadas no fígado, podendo a apoA1 ser também sintetizada no intestino. Este processo tem início com a lipidação da apoA1 dependente da ABCA-1. O resultado é a criação de uma partícula com forma discoide, que contém apolipoproteínas, fosfolipídios e uma pequena quantidade de colesterol não-esterificado, denominadas HDL nascente ou pré-beta-HDL. A enzima LCAT, presente principalmente nas HDL, esterifica o colesterol que migra para o núcleo da partícula, tornando a HDL quase esférica e progressivamente maior, chamada HDL “madura” (Srivastava, 2002; Rye; Barter, 2004; Jebari-Benslaiman *et al.*, 2022).

A CETP medeia a troca de TG de quilomícrons e VLDL por colesterol esterificado da HDL. A partícula de HDL rica em TG é mais sensível à ação da lipase hepática, o que favorece a retirada do colesterol esterificado do interior dessa lipoproteína. Neste processo, formam-se remanescentes de HDL, pobres em lipídeos, que são captados pelo fígado, e apoA1, que é metabolizada



preferencialmente pelos rins. As partículas de VLDL e LDL enriquecidas com ésteres de colesterol provenientes das HDL tornam-se mais suscetíveis à ação da lipase hepática e à captação por receptores de LDL presentes na superfície do hepatócito (Nelson; Cox, 2014; Filippatos; Kei; Elisaf, 2017).

Em resposta ao aumento do conteúdo intracelular de colesterol, o hepatócito reduz sua expressão de receptores de LDL, aumenta a atividade da enzima acilcolesterol aciltransferase (ACAT), estocando colesterol na forma esterificada, diminui a atividade da enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, diminuindo a produção intracelular de colesterol e aumentando a síntese de ácidos biliares. Com a entrada de colesterol nas células, as moléculas de colesterol livre em grande quantidade nas células periféricas causam um aumento na produção de óxidos de colesterol. Estas moléculas sinalizam a concentração de colesterol e estimulam os receptores hepáticos X (RXH) e os receptores hepáticos de retinóides (RXR), ativando a transcrição de receptores como ABCA-1, estimulando o efluxo de colesterol e deixando as moléculas de colesterol livre para serem capturadas pelo HDL circulante (Havel, 1984; Chandel, 2021).

O processo de formação da placa aterosclerótica tem início com o acúmulo de partículas de LDL contendo ácidos graxos oxidados na camada íntima arterial. Em seguida, monócitos circulantes são atraídos para a parede do vaso por moléculas secretadas pelas células endoteliais insultadas. Os monócitos se diferenciam em macrófagos, que apresentam receptores denominados *scavenger*, que fagocitam o LDL contendo colesterol. Esse acúmulo de colesterol em macrófagos da camada íntima arterial causa lesões nas células endoteliais. Quando o colesterol entra no macrófago por meio dos receptores *scavenger*, não há ativação do mecanismo de contrarregulação da entrada de colesterol e passa a acumulá-lo, dando origem às chamadas células espumosas. O acúmulo dessas células, somado ao tecido cicatricial formado na região, leva ao endurecimento e estreitamento das artérias e causa a maioria das doenças cardiovasculares (Moore; Freeman, 2006; Nelson; Cox, 2014; (Jebari-Benslaiman *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo, a partir da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), desempenha um papel vital na iniciação e propagação da aterosclerose. As EROs são mediadores-chave das vias de sinalização subjacentes à inflamação vascular na aterogênese, desde o início do desenvolvimento, passando pela progressão da lesão, até a ruptura da placa (Bonomini *et al.*, 2008). Estudos

apontam que EROs liberadas por complexos como nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase e enzimas como mieloperoxidase (MPO) e óxido nítrico sintase (NOS), além da produção aumentada de EROs a partir da cadeia respiratória mitocondrial disfuncional, têm um papel causal na aterosclerose e outras doenças vasculares (Harrison *et al.*, 2003). Sendo assim, é primordial proteger as células endoteliais visto que a parede endotelial é a primeira barreira para prevenir os danos do estresse oxidativo.

#### 4.1.2.1 Tamanho e subfrações HDL

O tamanho de partícula da HDL pode ser medido por técnica de espalhamento de luz dinâmico (do inglês, *dynamic light scattering*, DLS), sendo baseada na incidência de uma fonte de luz sob as partículas com dispersão da luz por todas as regiões de uma cubeta. É importante considerar que essas partículas estão em movimento e, portanto, tem-se uma flutuação na intensidade da luz que é proporcional ao tamanho das mesmas (Malvern Instruments, Zetasizer; 2018). A intensidade da luz espalhada pelas partículas depende do tamanho e, portanto, as maiores se dispersam intensamente em menores ângulos e as partículas menores se espalham com menor intensidade em ângulos mais amplos (Bhattacharjee, 2016). Assim, através dessa técnica determina-se o tamanho das partículas presentes na amostra, sendo que o diâmetro hidrodinâmico varia entre 1 a 2000 nm. Além disso, tem-se o índice de polidispersão (Pdl) que é utilizado para determinar o grau de “não uniformidade” de uma distribuição. Este índice pode variar entre 0 e 1, sendo que valores mais próximos de zero indicam a presença de tamanhos de partículas similares e valores mais próximos de um indicam tamanhos de partículas distintos (Lacatusu *et al.*, 2012).

Além da medição do tamanho de partícula, a HDL pode ser subdivida em diferentes subfrações que variam de acordo com seu tamanho e densidade. Essas subfrações têm diferentes papéis no metabolismo do colesterol. Por meio da técnica de ultracentrifugação, é possível dividir a HDL em duas subfrações: as HDL2 e as HDL3. As HDL2 correspondem a cerca de 40% do total da fração das concentrações de HDL, são maiores em tamanho, apresentam uma constituição mais rica em lipídeos e sua densidade varia na faixa de 1.063-1.125 mg/mL. Por outro lado, a HDL3 é a subfração mais predominante da HDL correspondendo a cerca de 60% da

concentração plasmática. As partículas que correspondem a essa subfração são comparativamente menores em tamanho, apresentam uma constituição mais rica em proteínas e sua densidade varia de 1.125-1.210 mg/mL (Lappegård; Kjellmo; Hovland, 2021).

O processo de separação dessas subfrações de HDL por tamanho pode ser realizado por diferentes métodos. Uma técnica muito utilizada é a eletroforese em gel de poliacrílamida não desnaturante, sendo esta uma técnica comumente usada na separação, caracterização, purificação e análise de expressão de proteínas. A partir desta técnica, consegue-se separar a HDL em cinco diferentes subfrações: HDL 2a (8,8-9,7 nm), HDL 2b (9,7-12 nm), HDL 3a (8,2-8,8 nm), HDL 3b (7,8-8,2 nm) e HDL 3c (7,2-7,8 nm) (LAPPEGÅRD *et al.*, 2021). Outra técnica utilizada para separar as subfrações do HDL por tamanho é a espectroscopia por ressonância magnética, que divide a HDL em três subfrações: HDL grandes (8,8-13 nm), HDL médias (8,2-8,8 nm), HDL pequenas (7,3- 8,2 nm) (Williams *et al.*, 1992; Lappegård; Kjellmo; Hovland, 2021).

Estudos sugerem que populações de pacientes com risco cardiovascular aumentado apresentam proporções alteradas de subfrações de HDL, com redução na quantidade de subfrações maiores, que são mais funcionais e ateroprotetoras, e aumento na quantidade de subfrações menores, menos funcionais e mais aterogênicas. Estudos abordando essa temática indicaram que baixos valores de HDL2 foram melhores preditores de doença coronariana do que HDL total ou HDL3 (Musunuru *et al.*, 2009; Sweetnam *et al.*, 1994). Além disso, no estudo de Stadler e colaboradores, indivíduos obesos apresentaram quantidades mais baixas de HDL2 e mais altas de HDL3 quando comparados com indivíduos com peso normal ou sobrepeso (Stadler *et al.*, 2021). Esses resultados concordam com o fato de que o HDL2 baixo está associado a vários componentes da síndrome metabólica, como sobrepeso e obesidade, resistência à insulina, glicemia de jejum aumentada (Moriyama; Negami; Takahashi, 2014).

Embora a maioria dos dados na literatura sugira que as grandes subfrações de HDL possuam um efeito mais protetor em comparação com as menores, essa questão ainda não é consensual (Albers *et al.*, 2016). Tais resultados podem refletir o risco inerente de doença em diferentes populações estudadas. Vários fatores como a predisposição genética, o uso de estatinas e até fatores como o gênero podem influenciar nesses resultados. Foi demonstrado que, no geral, os homens

têm uma composição de HDL mais aterogênica do que as mulheres (Zitnanova *et al.*, 2020).

Neste contexto, baseado nos mecanismos de desenvolvimento de doenças coronarianas e no risco de portadores de obesidade desenvolverem esse tipo de comorbidade, este estudo teve como objetivo avaliar indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica quanto ao risco cardiovascular com base em marcadores lipídicos convencionais e índices de risco, além de elucidar processos envolvidos na patogênese dessas doenças.

## 4.2 METODOLOGIA

### 4.2.1 Seleção de participantes

Indivíduos com obesidade submetidos à cirurgia bariátrica por BGYR ou SG no período de agosto de 2014 a novembro de 2015 e de novembro de 2018 a novembro de 2019 no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC), em Florianópolis, Brasil, foram selecionados para o estudo. Todos os participantes cumpriram os critérios para cirurgia bariátrica estabelecidos pelo Ministério da Saúde (Ministério da Saúde, 2013). O grupo incluiu indivíduos com  $IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$  ou  $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$  com comorbidades relacionadas ao peso. Além desse grupo, foram selecionados indivíduos de peso normal de ambos os sexos, entre 18 a 69 anos, com IMC até  $25 \text{ kg/m}^2$ , clinicamente saudáveis e sem diagnóstico conhecido de doenças crônicas, autoimunes e/ou infecciosas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado de Santa Catarina sob o nº 24279013.7.0000.0121 (Anexo 1) e todos os participantes foram informados verbalmente sobre o estudo e assinaram o TCLE (Anexo 2).

### 4.2.2 Coleta de dados e obtenção de soro

Informações sobre gênero, idade, IMC, comorbidades e uso de medicamentos foram obtidas nos prontuários de cada paciente. Amostras de sangue em jejum foram coletadas antes e um, três e seis meses após a cirurgia. Um pequeno grupo de participantes foi submetido a uma nova coleta 12 meses após o procedimento cirúrgico. O jejum foi definido como 10 horas ou mais desde a última refeição antes da coleta de sangue. O soro foi separado, dividido em alíquotas e posteriormente armazenado a  $-80^\circ\text{C}$ .

### 4.2.3 Determinações de parâmetros bioquímicos

Colesterol total, TG, HDL-C e glicose foram medidos por métodos enzimáticos (Dimension RXL Max, Siemens, Berlim, Alemanha). O LDL-C foi calculado pela equação de Friedewald. A insulina sérica e PCR foram medidas pelo método imunoquimioluminométrico (Advia Centaur XP, Siemens, Berlim, Alemanha). Os valores de referência utilizados foram baseados nas Diretrizes do Adult Treatment Panel (ATP) III (NIH, 2001). Os índices de risco Castelli –I e –II foram calculados

com as fórmulas: total/HDL-C e LDL/HDL-C, respectivamente. Além disso, foram calculadas as proporções de TG/HDL-C e não-HDL/HDL-C.

#### **4.2.4 Cultura celular**

Células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) foram cultivadas em DMEM contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Para o experimento, as células foram semeadas em placas de 24 poços com densidade de  $1 \times 10^5$  células/poço até 80% de confluência. Após a confluência, as células foram privadas de SFB por oito horas. Após a privação de soro, as células foram divididas em oito grupos e incubadas em DMEM com 10% de SFB, DMEM isoladamente, além de seis tipos de meio compostos por DMEM contendo 4 pg/mL de TNF- $\alpha$ , 12 pg/mL de IL1- $\beta$ , 15 pg/mL de IFN- $\gamma$  e 5  $\mu$ g/mL de SAA; DMEM com 10% de soro humano contendo diferentes concentrações de HDL-C; e DMEM contendo 2 $\mu$ M de insulina. Após 24 horas o sobrenadante foi recolhido e armazenado a -80°C até o momento das análises e as células aderidas foram utilizadas imediatamente para a determinação do potencial de membrana mitocondrial.

Para o experimento foram selecionados soros humanos dos indivíduos com a maior e menor concentração de HDL-C entre os pacientes portadores de obesidade (no primeiro período pós-operatório) e entre os indivíduos de peso normal.

#### **4.2.5 Determinação de TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$ e IL-10**

Para a determinação de TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1, IFN- $\gamma$  e IL-10 foram utilizados conjuntos diagnósticos BD OptEIA human ELISA Set (Franklin Lakes, Nova Jersey, EUA). Todos os conjuntos diagnósticos consistem em ELISA (ensaio imunoenzimático) do tipo sanduíche e foram realizados de acordo com os protocolos fornecidos pelo fabricante. Os cálculos das concentrações foram realizados através da equação da reta de cada citocina, obtida a partir de curvas de calibração (Apêndice A).

#### **4.2.6 Determinação de metabólitos do óxido nítrico (NOx)**

A produção de óxido nítrico (NO) foi medida indiretamente pelo método de Griess, através da formação de nitrito (NO<sub>2</sub>-), metabólito do NO (Green *et al.*, 1982).

O reagente de Griess é composto por uma mistura de quantidades iguais de sulfanilamida 1% e Alfa-Naftil-Etilenodiamina 0,1%. Os sobrenadantes da cultura celular foram incubados com o reagente de Griess na proporção de 1:1 em placas de 96 poços e foram incubados por 40 minutos. Após a incubação, a absorbância foi lida em 540 nm. O cálculo das concentrações foi realizado através da equação da reta, obtida por uma curva de calibração (Apêndice A). O reagente de Griess reage com o nitrito produzindo um composto de coloração rosa, que reflete os metabólitos presentes na amostra (Dirsch; Stuppner; Vollmar, 1998).

#### **4.2.7 Determinação do Potencial de Membrana Mitocondrial**

Para avaliar o efeito do meio de cultura enriquecido com diferentes substratos sobre o potencial de membrana mitocondrial em HUVEC foi utilizada uma sonda fluorescente catiônica lipofílica, JC-1. JC-1 é um corante que, naturalmente, exibe fluorescência verde. Esse corante é capaz de entrar nas mitocôndrias onde se acumula de maneira dependente da concentração e forma agregados, chamados agregados J. Esses agregados exibem excitação e emissão no espectro vermelho. Assim, em células saudáveis com um potencial da membrana mitocondrial alto, o corante JC-1 entra e se acumula nas mitocôndrias energizadas e carregadas negativamente e forma espontaneamente agregados J fluorescentes vermelhos. Por outro lado, em células não saudáveis ou apoptóticas, o corante JC-1 entra nas mitocôndrias em menor grau, já que o interior das mitocôndrias é menos negativo devido ao aumento da permeabilidade da membrana e a perda de potencial eletroquímico. Nesse caso, o JC-1 não atinge concentrações suficientes para desencadear a formação de agregados J, mantendo sua fluorescência verde original.

Para o ensaio, nas células submetidas aos diferentes tratamentos por 24 horas foram adicionados 10 µg/mL de JC-1 e as células foram mantidas por 20 minutos a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram lavadas com PBS e 300µL de PBS foram adicionados a cada poço para leitura das fluorescências vermelha e verde em multileitora de placas (TECAN Infinite M200, localizado no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia – LAMEB – UFSC). O potencial de membrana mitocondrial foi calculado como uma razão entre a intensidade média de fluorescência da fluorescência vermelha (comprimento de onda de excitação, 530 nm; comprimento

de onda de emissão, 590 nm) e da fluorescência verde (comprimento de onda de excitação, 485 nm; comprimento de onda de emissão, 528 nm) para cada amostra. As amostras foram normalizadas como uma porcentagem do controle não tratado (100%). As alterações no potencial mitocondrial foram indicadas como uma diminuição na relação de intensidade de fluorescência vermelha e verde. Como controle positivo foi utilizado 1  $\mu\text{M}$  de FCCP (*carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy) phenylhydrazone*), conhecido desacoplador do potencial de membrana mitocondrial.

#### **4.2.8 Determinação do tamanho de HDL**

Para a mensuração do tamanho de partícula da HDL foi realizada a precipitação das lipoproteínas de baixa densidade (VLDL, IDL e LDL) das amostras de soro com precipitante composto por ácido fosfotúngstico 1,5 mmol/L e cloreto de magnésio 54 mmol/L. As amostras de soro foram misturadas ao precipitante na proporção de 1:1 e foram centrifugadas em 3000g por 15 minutos para obtenção de um sobrenadante límpido rico em HDL. O sobrenadante foi diluído em cloreto de sódio (NaCl) na concentração de 0,9% (m/v) na proporção 1:4 (sobrenadante:diluyente). Para a etapa de filtração com remoção de impurezas e precipitados, utilizou-se um filtro de poro 0,22  $\mu\text{m}$  (Ultrafree®- MC, 0.5 mL) seguida de centrifugação a 12.000g por 4 minutos.

Posteriormente, as amostras foram analisadas por DSL em equipamento Zetasizer Nano (Malvern Panalytical, Sprectris, London, UK) utilizando cubetas de quartzo. Por fim, os dados finais foram obtidos a partir da média de três análises realizadas pelo equipamento. Cada análise contempla de 10-30 medições.

#### **4.2.9 Análise estatística**

Para o estudo clínico, o teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a simetria das variáveis, o teste de Friedman foi utilizado para avaliar diferenças entre todo o seguimento e o teste de Wilcoxon foi utilizado para avaliar alterações pareadas antes e após a cirurgia. Esses três testes foram utilizados na análise de variáveis ordinais. Para dados nominais, foi utilizado o teste de McNemar na avaliação das alterações pareadas antes e após a cirurgia. Para os ensaios in vitro, foram utilizadas as análises de variância de uma via (ANOVA), seguido de pós teste de Dunnett. Os dados foram analisados utilizando o programa estatístico Medcalc,



versão 16.8.4 (Mariakerke, Bélgica) e ilustrados utilizando o GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Foi considerado valor de  $p \leq 0,05$  para indicar significância estatística.

## 4.3 RESULTADOS

### 4.3.1 Características dos indivíduos

Participaram do estudo 82 indivíduos com obesidade grave, 68 mulheres (83%) e 14 homens (17%). A idade dos participantes variou de 21 a 62 anos, com mediana de 43 anos. A mediana do IMC no pré-operatório foi de 48 kg/m<sup>2</sup> e ao final do acompanhamento, seis meses depois, diminuiu para 34 kg/m<sup>2</sup> (p<0,0001). Além dos indivíduos portadores de obesidade, foram incluídos no estudo 67 participantes considerados não-obesos, 53 mulheres (79%) e 14 homens (21%), com idade entre 24 e 67 anos e IMC entre 17,8 e 25 kg/m<sup>2</sup>.

### 4.3.2 Perfil lipídico e glicêmico

Na avaliação do perfil lipídico foram observadas diferenças entre os tempos de seguimento para HDL-C e TG (p<0,0001). Para o não-HDL-C não foram observadas diferenças (p=0,0753). Além disso, todos os índices calculados apresentaram diferença significativa: p=0,0037 para o índice Castelli-I, p=0,0014 para o índice Castelli-II, p<0,0001 para a relação TG/HDL-C e p=0,0037 para a razão n-HDL/HDL-C. Os dados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - IMC e perfis lipídico e glicêmico.

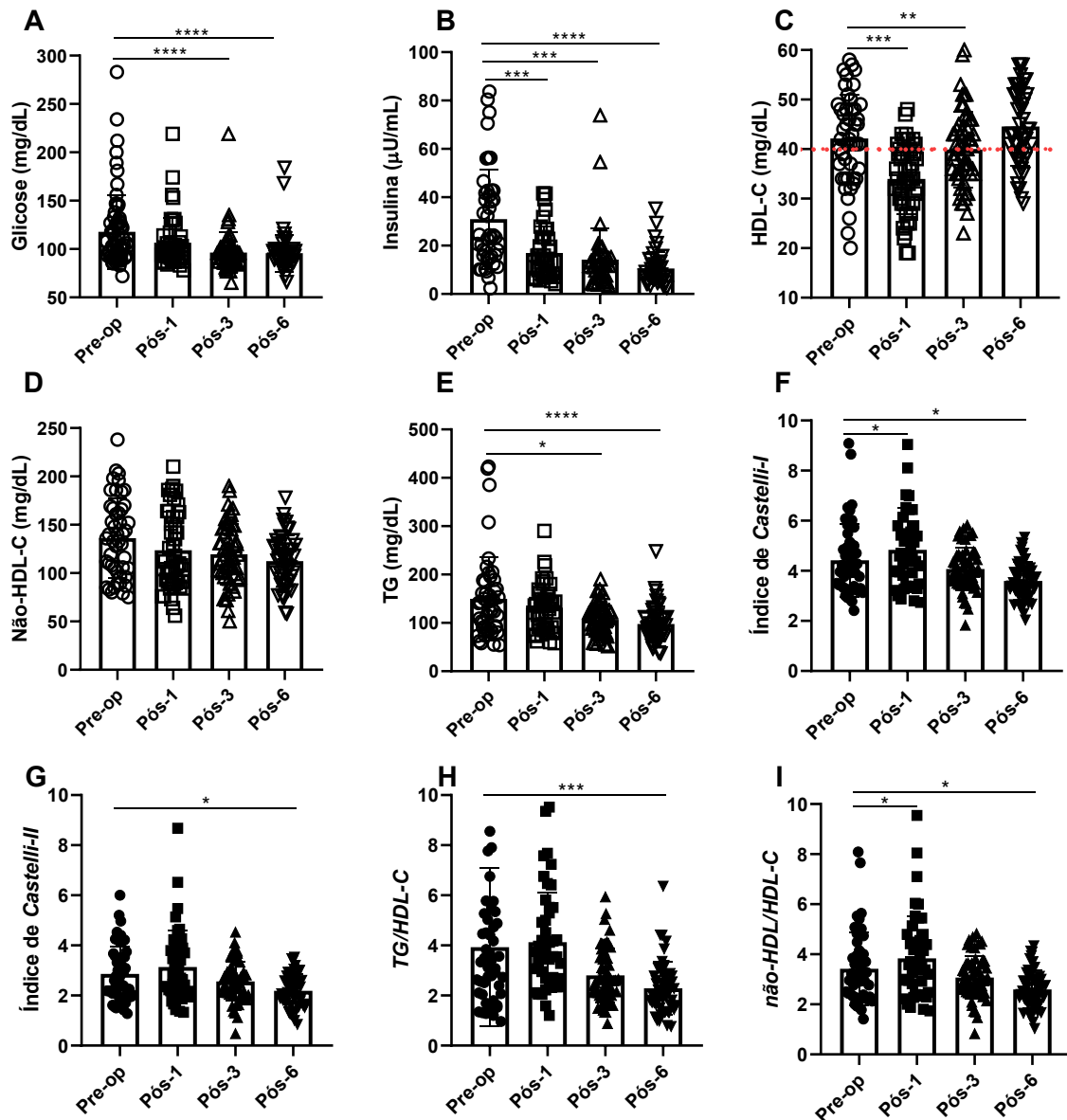
	Pre-operatório	Pós-operatório (1 mês)	Pós-operatório (3 meses)	Pós-operatório (6 meses)	p Teste de Friedman
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	48 (34 – 71)	42 (30 – 62)	39 (29 – 56)	34 (21 – 50)	p<0,0001****
Glicemia de jejum (mg/dL)	104 (72 – 283)	99 (78 – 219)	92,5 (65 – 219)	92 (66 – 184)	p<0,0001****
Insulina (μU/mL)	23,8 (2 – 84)	13,5 (4 – 42)	11,7 (3 – 74)	8,5 (3 – 35)	p= 0,0023**
HDL-C (mg/dL)	42 (20 – 58)	34 (19 – 48)	40 (23 – 60)	43 (29 – 61)	p<0,0001****
Não-HDL-C (mg/dL)	134,5 (75 – 238)	111 (56 – 210)	116 (50 – 190)	114,5 (58 – 178)	p= 0,0753
TG (mg/dL)	135 (54 – 423)	135 (58 – 290)	106 (52 – 190)	90 (37 – 248)	p<0,0001****
Índice de <i>Castelli-I</i>	4 (2 – 9)	5 (3 – 11)	4 (2 – 6)	3 (2 – 5)	p= 0,0037**
Índice de <i>Castelli-II</i>	3 (1 – 6)	3 (1 – 9)	3 (0,5 – 5)	2 (1 – 4)	p= 0,0014**
TG/HDL-C	3 (1 – 21)	4 (1 – 10)	3 (1 – 6)	2 (1 – 6)	p<0,0001****
não-HDL-C/HDL-C	3 (1 – 8)	4 (2 – 10)	3 (1 – 5)	2 (1 – 4)	p<0,0037**

N=82. Os resultados são apresentados como medianas seguidas de valores mínimos e máximos. IMC: índice de massa corporal; HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos. Valores de referência: glicemia de jejum (<100mg/dL); insulina (<29 μU/mL); HDL-C (>40 mg/dL); TG (<150 mg/dL); não-HDL-C (<130 mg/dL); Índice de Castelli I (<5,1); Índice de Castelli

II (< 3,3). Os valores de \*\* $p < 0,01$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  foram considerados estatisticamente significativos, usando o teste de Friedman.

Para analisar em quais períodos foram encontradas diferenças, foram realizadas análises pareadas entre os valores pré-operatórios e os três valores de seguimento. Para o não-HDL-C, não foram encontradas diferenças em nenhum momento de acompanhamento. Para TG e glicemia de jejum, comparado ao pré-operatório, foram encontradas diminuições significativas após três meses ( $p = 0,0208$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente) e seis meses ( $p < 0,0001$ ). Para a insulina, foi observada queda no primeiro mês ( $p = 0,0008$ ) e continuou caindo após três ( $p = 0,0003$ ) e seis meses ( $p < 0,0001$ ). Na análise do HDL-C foi observada queda acentuada no primeiro mês ( $p < 0,0001$ ), queda menos significativa no terceiro mês ( $p = 0,0035$ ) e nenhuma diferença foi observada no sexto mês. Para o índice de Castelli-I e relação não HDL/HDL-C foi observado aumento significativo no primeiro mês ( $p = 0,0243$ ) e diminuição significativa no sexto mês ( $p = 0,0387$ ). Para o índice de Castelli-II e TG/HDL-C, foi observado apenas um aumento após seis meses ( $p = 0,0266$  e  $p = 0,0002$ , respectivamente). A avaliação dos marcadores lipídicos e glicêmicos é apresentada na Figura 5.

Figura 5 - Avaliação dos perfis lipídico e glicêmico.

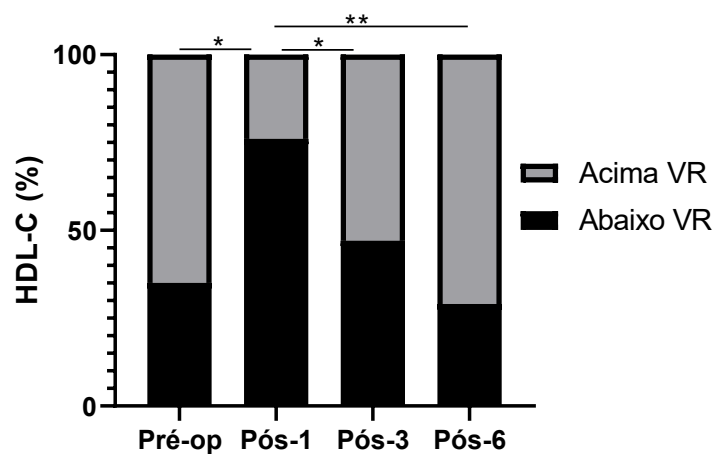


N=82. Glicemia de jejum (A), insulina (B), HDL-C (C), não-HDL-C (D), TG (E), índice de Castelli-I (F), índice de Castelli-II (G), TG/HDL-C (H) e não HDL-C/HDL-C (I) antes, 1, 3 e 6 meses após a cirurgia bariátrica. No gráfico C, a linha tracejada indica a concentração de 40 mg/dL. HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; Pre-op Pré-operatório; Pós-1 1 mês pós-operatório; Pós-3 3 meses pós-operatório; Pós-6 6 meses pós-operatório. Valores de referência: glicemia de jejum (<100mg/dL); insulina (<29  $\mu$ U/mL); HDL-C (>40 mg/dL); TG (<150 mg/dL); não-HDL-C (<130 mg/dL); Índice de Castelli I (<5,1); Índice de Castelli II (< 3,3). Os valores de \* $p$ <0,05; \*\* $p$ <0,01; \*\*\* $p$ <0,001 e \*\*\*\* $p$ <0,0001 foram considerados estatisticamente significativos, usando o teste de Wilcoxon.

Como as análises anteriores foram baseadas em valores absolutos, o HDL-C foi avaliado pelo valor de referência. Os valores foram divididos em dois grupos: abaixo ou acima do valor de referência. Antes do procedimento cirúrgico, apenas 35% dos participantes apresentavam concentrações de HDL-C abaixo do valor de

referência, enquanto no primeiro mês de pós-operatório, 76% dos participantes apresentavam concentrações de HDL-C abaixo do valor de referência, seguido por 47% no terceiro mês e 29% no sexto mês. Quando essas variáveis nominais foram comparadas entre si, foram encontradas diferenças significativas entre o pré-operatório e o 1º mês ( $p=0,0352$ ); 1 mês vs. 3 meses ( $p=0,0129$ ); 1 mês vs. 6 meses ( $p=0,0013$ ). Esses resultados são mostrados na Figura 6.

Figura 6 - Percentual de indivíduos com concentrações de HDL-C acima e abaixo do valor de referência (>40 mg/dL).

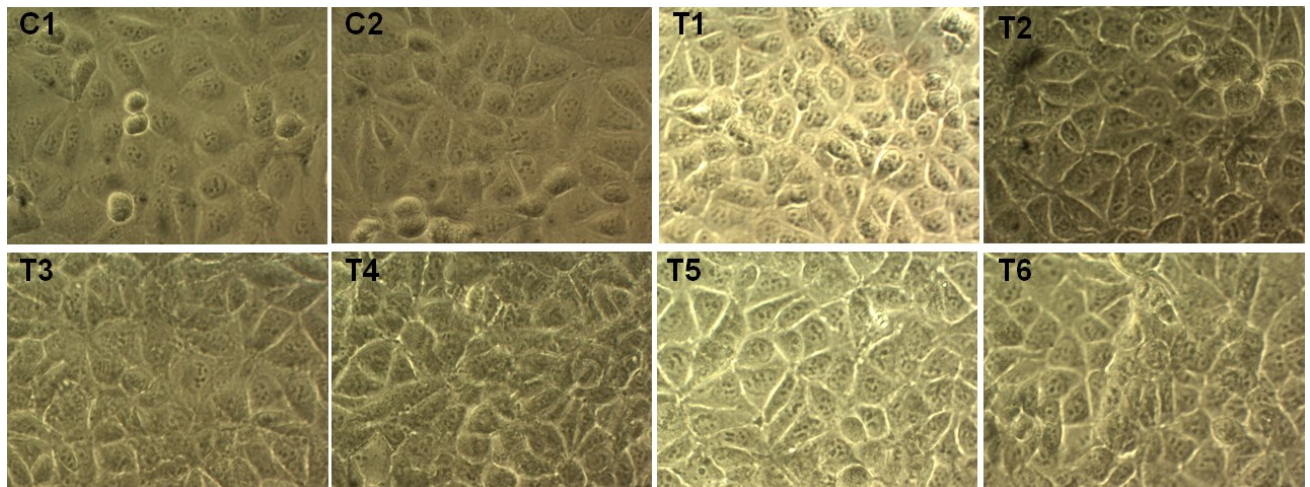


N=82. Valor de referência baseado nas Diretrizes do *Adult Treatment Panel (ATP) III* (NIH, 2001). VR: valor de referência; HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade. Valor de referência: HDL-C (>40 mg/dL); Os valores de \* $p<0,05$  e \*\* $p<0,01$  foram considerados estatisticamente significativos, usando o teste de McNemar.

#### 4.3.3 Avaliação da inflamação in vitro

Fotomicrografias ópticas das células HUVEC incubadas com diferentes tratamentos foram realizadas 24 horas após o tratamento. As imagens são mostradas na figura 7.

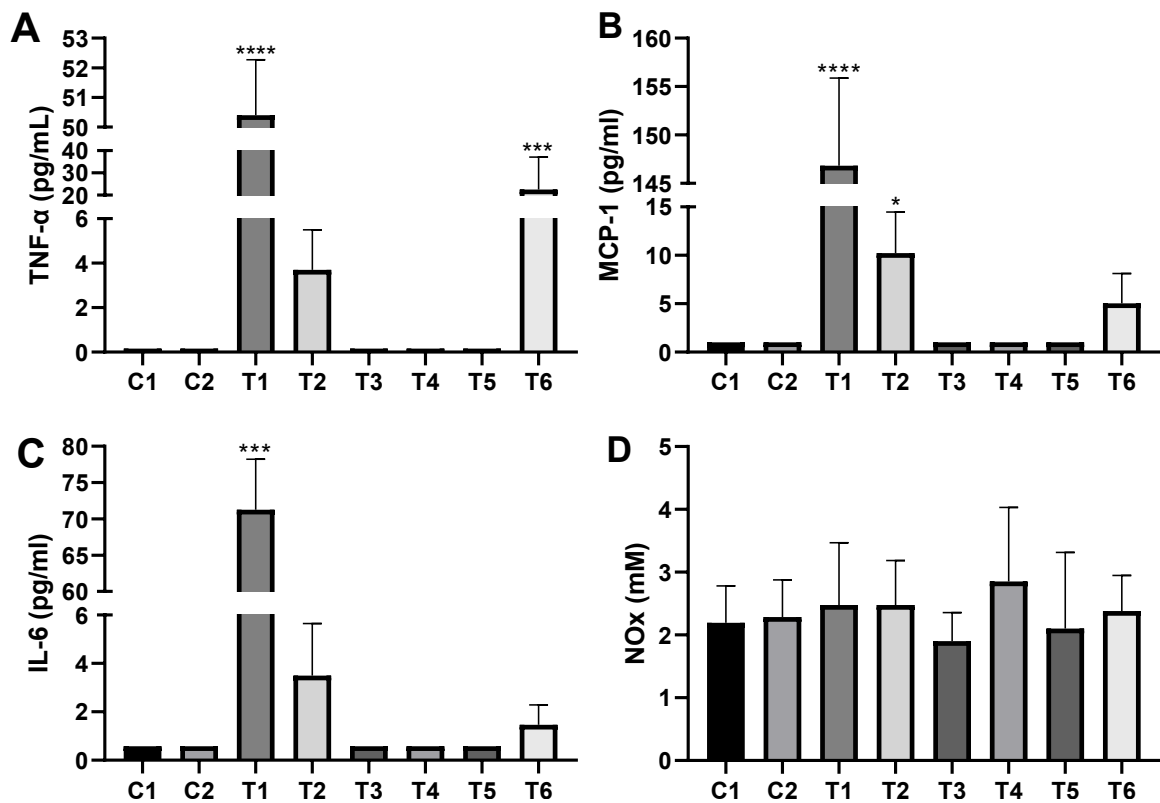
Figura 7 - Fotomicrografias ópticas de células da linhagem HUVEC 24 horas após tratamento com diferentes meios.



Micrografias ópticas tiradas 24 horas após o tratamento com C1: DMEM com 10% SFB; C2: DMEM; T1: DMEM contendo 4 pg/mL de TNF- $\alpha$ , 12 pg/mL de IL1- $\beta$ , 15 pg/mL de IFN- $\gamma$  e 5  $\mu$ g/mL de SAA; T2: DMEM com 10% de soro de paciente com obesidade um mês após cirurgia bariátrica (HDL-C 19 mg/dL); T3: DMEM com 10% de soro de paciente com obesidade um mês após cirurgia bariátrica (HDL-C 48 mg/dL); T4: DMEM com 10% de soro de indivíduo controle (HDL-C 32 mg/dL); T5: DMEM com 10% de soro de indivíduo controle (HDL-C 81 mg/dL); T6: DMEM contendo 2 $\mu$ M de insulina. Aumento de 200x. SFB: soro fetal bovino; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; IL1- $\beta$ : interleucina-1 $\beta$ ; IFN- $\gamma$ : interferon  $\gamma$ ; SAA: proteína amiloide sérica A; HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade.

Na avaliação da inflamação *in vitro* utilizando células endoteliais, as citocinas IFN- $\gamma$  e IL-10 não foram detectadas no sobrenadante das células HUVEC incubadas com os diferentes meios. Já na avaliação das citocinas TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL-6, todas mostraram diferença significativa nas concentrações quando incubadas com uma mistura de fatores inflamatórios (T1: 4 pg/mL de TNF- $\alpha$ , 12 pg/mL de IL1- $\beta$ , 15 pg/mL de IFN- $\gamma$  e 5  $\mu$ g/mL de SAA) e comparadas ao grupo controle. Também foram observadas diferenças significativas nas concentrações de MCP-1 no sobrenadante celular incubado com o soro do participante portador de obesidade com a menor concentração de HDL-C (T2: 19 mg/dL) e nas concentrações de MCP-1 no sobrenadante celular incubado com 2 $\mu$ M de insulina. Além disso, houve tendência de aumento nas concentrações de IL-6 nos grupos T2 e T6 e nas concentrações de TNF- $\alpha$  no grupo T2. Já na avaliação das concentrações de NO $_x$ , não foram encontradas diferenças entre os grupos controle e tratados. Os resultados estão ilustrados na figura 8.

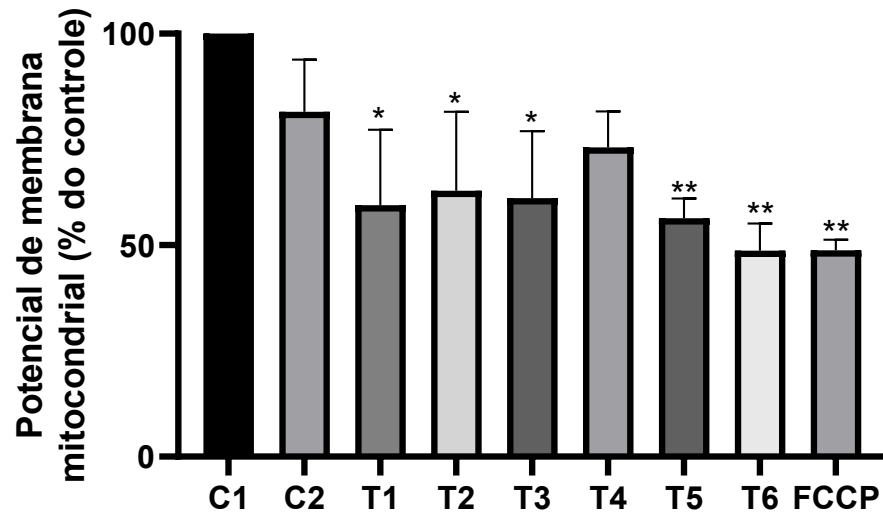
Figura 8 - Avaliação de marcadores inflamatórios no sobrenadante de células da linhagem HUVEC 24 horas após tratamento com diferentes meios enriquecidos.



Valores de (A) TNF- $\alpha$ , (B) MCP-1, (C) IL-6 e (D) NOx no sobrenadante celular após 24 horas de tratamento com C1: DMEM com 10% SFB; C2: DMEM; T1: DMEM contendo 4 pg/mL de TNF- $\alpha$ , 12 pg/mL de IL1- $\beta$ , 15 pg/mL de IFN- $\gamma$  e 5  $\mu$ g/mL de SAA; T2: DMEM com 10% de soro de paciente com obesidade um mês após cirurgia bariátrica (HDL-C 19 mg/dL); T3: DMEM com 10% de soro de paciente com obesidade um mês após cirurgia bariátrica (HDL-C 48 mg/dL); T4: DMEM com 10% de soro de indivíduo controle (HDL-C 32 mg/dL); T5: DMEM com 10% de soro de indivíduo controle (HDL-C 81 mg/dL); T6: DMEM contendo 2 $\mu$ M de insulina. SFB: soro fetal bovino; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; IL1- $\beta$ : interleucina-1 $\beta$ ; IFN- $\gamma$ : interferon  $\gamma$ ; SAA: proteína amiloide sérica A; HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade; NOx: metabólitos do óxido nítrico; IL-6: interleucina-6; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos. Os valores de \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  foram considerados estatisticamente significativos, usando ANOVA, seguido do teste de Dunnett.

O potencial de membrana mitocondrial foi investigado após 24 horas de exposição de células da linhagem HUVEC a diferentes meios utilizando a sonda fluorescente JC-1, amplamente utilizada em estudos para monitorar a saúde mitocondrial, e FCCP como controle positivo. A menor formação de agregados J indica perda de potencial de membrana mitocondrial, que foi observada em HUVEC expostas a diferentes fatores, exceto ao grupo T4 (DMEM com 10% de soro de indivíduo controle contendo concentrações de HDL-C de 32 mg/dL). Em comparação com o controle negativo, a diminuição do potencial de membrana mitocondrial foi de cerca de 40% para os grupos T1, T2 e T3 ( $p < 0,05$ ), 45% no grupo T5 ( $p > 0,01$ ) e 50% no grupo T6 ( $p > 0,01$ ). Os resultados estão ilustrados na figura 9.

Figura 9 - Efeito de diferentes meios no potencial de membrana mitocondrial de células da linhagem HUVEC.



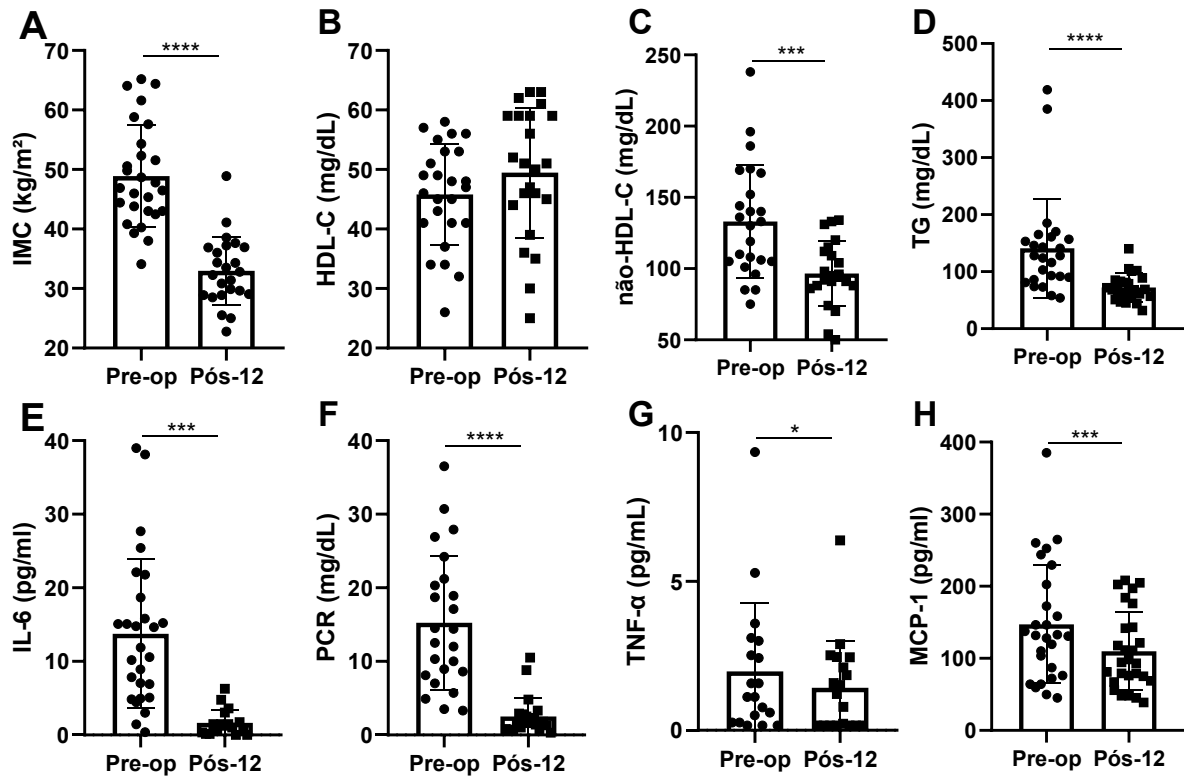
C1: DMEM com 10% SFB; C2 DMEM; T1: DMEM contendo 4 pg/mL de TNF- $\alpha$ , 12 pg/mL de IL1- $\beta$ , 15 pg/mL de IFN- $\gamma$  e 5  $\mu$ g/mL de SAA; T2: DMEM com 10% de soro de paciente com obesidade um mês após cirurgia bariátrica (HDL-C 19 mg/dL); T3: DMEM com 10% de soro de paciente com obesidade um mês após cirurgia bariátrica (HDL-C 48 mg/dL); T4: DMEM com 10% de soro de indivíduo controle (HDL-C 32 mg/dL); T5: DMEM com 10% de soro de indivíduo controle (HDL-C 81 mg/dL); T6: DMEM contendo 2  $\mu$ M de insulina. SFB: soro fetal bovino; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; IL1- $\beta$ : interleucina-1 $\beta$ ; IFN- $\gamma$ : interferon  $\gamma$ ; SAA: proteína amiloide sérica A; HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade; FCCP: carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy) phenylhydrazone. Os resultados estão expressos como o percentual de fluorescência em comparação com as células sem tratamento. Os valores de \* $p < 0,05$  e \*\* $p > 0,01$  foram considerados estatisticamente significativos quando comparados com o controle, usando ANOVA, seguido do teste de Dunnett.

#### 4.3.4 Perfis lipídico e inflamatório 12 meses após o procedimento

Vinte e sete participantes do grupo de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica retornaram 12 meses após o procedimento. Desses, foram realizadas novas análises dos perfis lipídico e inflamatório. Para esses participantes, a mediana do IMC era de 46,9 kg/m<sup>2</sup> no pré-operatório e 32,8 kg/m<sup>2</sup> um ano após o procedimento ( $p < 0,0001$ <sup>\*\*\*\*</sup>). Com exceção do HDL-C, todos os parâmetros analisados (n-HDL-C, TG, IL-6, PCR, TNF- $\alpha$  e MCP-1) mostraram diminuição um ano após a cirurgia bariátrica. Os resultados são mostrados na figura 10.



Figura 10 - Avaliação dos perfis lipídico e inflamatório após 12 meses.



N=27. IMC (A), HDL-C (B), não-HDL-C (C), TG (D), IL-6 (E), PCR (F), TNF- $\alpha$  (G) e MCP-1 (H) antes e 12 meses após a cirurgia bariátrica. HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeo; IL-6: interleucina-6; PCR: proteína C reativa; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; MCP-1: proteína quimiotática de monócitos. Valores de referência: HDL-C (>40 mg/dL); não-HDL-C (<130 mg/dL); TG (<150 mg/dL); PCR (<5 mg/dL). Os valores de \* $p$ <0,05; \*\* $p$ <0,01; \*\*\* $p$ <0,001 e \*\*\*\* $p$ <0,0001 foram considerados estatisticamente significativos, usando o teste de Wilcoxon.

#### 4.3.5 Tamanho de HDL

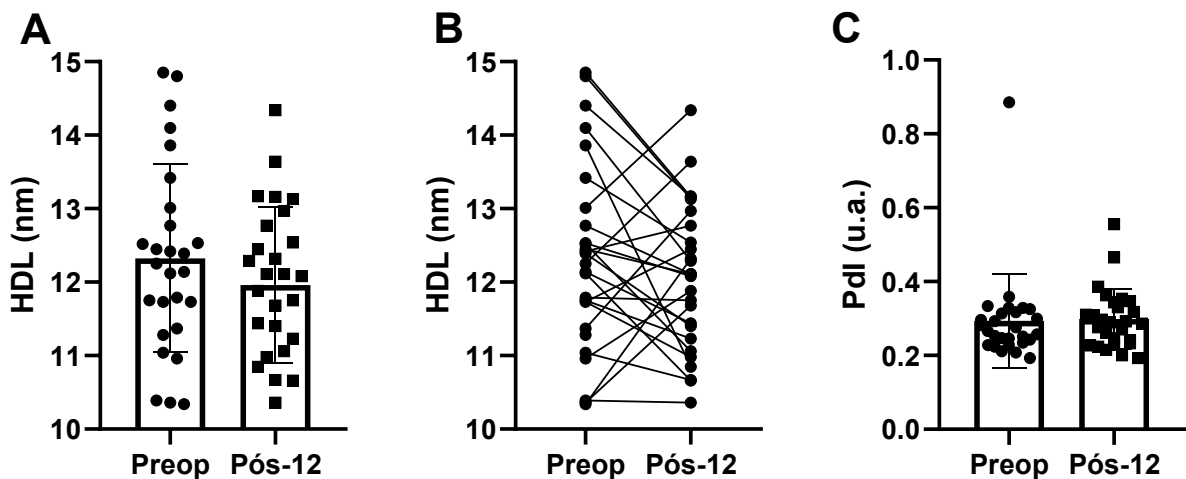
As análises de tamanho de HDL foram realizadas utilizando o soro dos 27 participantes do grupo de indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica que retornaram 12 meses após o procedimento. Desse grupo, foram analisados os tamanhos da partícula de HDL antes e um ano após o procedimento cirúrgico.

Não foram observadas alterações significativas no tamanho de partícula entre o período pré-operatório e um ano após o procedimento bariátrico (figura 11A). No período pré-bariátrica o tamanho de partícula variou entre 10,34 nm e 14,85 nm, com mediana de 12,25 nm, e no período pós-bariátrica a variação foi entre 9,946 nm e 14,34 nm com mediana de 12,08 nm. Na análise individual dos pacientes no período pré e pós-operatório (figura 11B) é possível verificar que a maior parte dos pacientes apresentou diminuição do tamanho de partícula da HDL (n= 19), apesar

de a variação não ser estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Ainda, alguns pacientes apresentaram aumento do tamanho da HDL ( $n = 8$ ).

Além do tamanho de partícula, foi realizada a análise do Pdl (figura 11C). De forma geral, as amostras apresentaram um Pdl com baixa dispersão, com valores próximos de 0,2 a 0,4 u.a. Entretanto, houve alguns poucos pontos que não estavam em uniformidade com os demais. Estes foram considerados devido a dois fatores: pela presença de um pico claro na faixa onde se esperava encontrar a HDL e pelo controle de qualidade interno do equipamento ter sido considerado bom.

Figura 11 - Tamanho de partícula da HDL em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica.



N=27. Tamanho da partícula de HDL em análise coletiva (A) e individual (B) e Pdl (C) antes e um ano após a cirurgia bariátrica. HDL: lipoproteína de alta densidade; Pdl: índice de polidispersão. Teste de Wilcoxon.

#### 4.4 DISCUSSÃO

Com a diminuição significativa das concentrações de glicose, insulina e TG, bem como dos índices de Castelli-I e II e das relações TG/HDL-C e não-HDL/HDL-C o presente estudo confirma os efeitos benéficos da cirurgia bariátrica sobre os perfis lipídico e glicêmico. Porém, traz um alerta para as possíveis consequências da queda acentuada das concentrações de HDL-C no primeiro mês após a cirurgia.

Estudos anteriores também mostraram uma diminuição acentuada nas concentrações de HDL-C durante a primeira fase da perda de peso, mesmo com diferentes estratégias. Esse fenômeno ocorre não apenas com procedimentos bariátricos, mas também com perda nutricional de peso, principalmente com restrição de gordura e com algumas farmacoterapias de controle de peso. Em estudos anteriores que relataram esse declínio transitório inicial, após a primeira fase de perda de peso, as concentrações de HDL-C aumentaram gradualmente e, 10 anos após a cirurgia, atingiram valores de até 47% acima dos valores pré-operatórios (Sjöström *et al.*, 2004; Jamal *et al.*, 2011; Garcia-Marirrodrga *et al.*, 2012; Bays *et al.*, 2013; Bays *et al.*, 2016; Genua *et al.*, 2020). No entanto, poucos discutiram em profundidade as razões e os riscos da redução das partículas de HDL no início da perda de peso.

Em 1953 foi relatado que as concentrações de HDL-C eram significativamente mais baixas em indivíduos com doença arterial coronariana em comparação com controles saudáveis (Nikkila, 1953). Desde então, o impacto negativo das baixas dosagens de HDL-C e elevadas concentrações de partículas de LDL na saúde cardiovascular está bem estabelecido. O *Framingham Heart Study* mostrou que o risco de infarto do miocárdio aumenta em aproximadamente 25% para cada diminuição de 5 mg/dL no HDL-C sérico abaixo dos valores medianos. Este risco é independente do risco atribuído a concentrações elevadas de LDL-C (Barter *et al.*, 2007; Robins *et al.*, 2011). Dados observacionais como estes levaram à ideia de que o HDL-C pode ter propriedades que protegem contra doenças cardiovasculares e que a intervenção para aumentar o HDL-C reduziria o risco de desenvolvimento dessas doenças. Vários estudos pré-clínicos apoiaram a hipótese de que o HDL-C é protetor contra a aterosclerose e, combinados com dados epidemiológicos, reforçaram fortemente a hipótese do HDL, tornando o HDL um alvo para novas abordagens terapêuticas (Glomset *et al.*, 1966; Badimon; Badimon; Fuster, 1990;

Rubin *et al.*, 1991). No entanto, evidências genéticas e de ensaios clínicos randomizados dos últimos anos indicaram que as concentrações de HDL-C não parecem ser um caminho terapêutico viável para prevenção cardiovascular (Hegele *et al.*, 2020; Frikke-Schmidt, 2020; Rohatgi *et al.*, 2021). Apesar disso, é importante enfatizar que o valor do HDL-C como preditor de risco cardiovascular permanece incontestado. Muitos estudos prospectivos em diferentes populações confirmaram que o HDL-C é um preditor forte, consistente e independente da incidência de eventos cardiovasculares, como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral isquêmico, uma vez que reflete altas concentrações de TG e lipoproteínas remanescentes aterogênicas (Toth *et al.*, 2013; Goff Jr *et al.*, 2014).

No presente estudo, foi identificada diminuição acentuada das concentrações de HDL-C no primeiro mês de pós-operatório, que se manteve em menor proporção no terceiro mês e não foi mais observada ao final de seis meses. Os primeiros testes estatísticos realizados avaliaram os valores absolutos do HDL-C, portanto, para avaliar as implicações práticas dessa diminuição, os participantes foram estratificados em dois grupos: abaixo e acima do valor de referência (40 mg/dL). Com essa análise pode-se observar que no primeiro mês de pós-operatório 76% dos participantes apresentaram HDL-C abaixo do valor de referência, seguido de 47% no terceiro mês. Esses resultados confirmaram o aumento do risco de eventos cardiovasculares no pós-operatório imediato de cirurgia bariátrica.

Uma das explicações para a diminuição das concentrações de HDL-C na obesidade é devido à atividade da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP). A CETP medeia a transferência de TG de partículas ricas em TG para partículas de HDL e a transferência de colesterol esterificado de HDL para estas partículas. Como uma molécula de TG é significativamente maior que uma molécula de éster de colesterol, a substituição dos ésteres de colesterol por TG aumenta o tamanho do HDL. Em circunstâncias em que as concentrações plasmáticas de TG são elevadas, a transferência de ésteres de colesterol das HDL excede a dos TG. Isso gera partículas de HDL com depleção de lipídios, com excesso de constituintes de superfície e estabilidade estrutural comprometida. Estas grandes partículas resultantes são o substrato preferido para a enzima lipase hepática e são eliminadas pelo fígado. A obesidade também aumenta a atividade da lipase hepática (Rashid; Genest, 2007; Rye; Barter, 2014). Estudos anteriores relataram redução na atividade plasmática da CETP e na atividade da lipase hepática induzida pela perda de peso

após cirurgia bariátrica, levando a um perfil lipoproteico mais favorável (Kaser *et al.*, 2004; Pardina *et al.*, 2009; Aron-Wisnewsky *et al.*, 2011).

A utilidade do HDL-C como preditor independente de risco é demonstrada pelo seu uso contínuo em equações de risco cardiovascular. A medida de risco cardiovascular baseada em cálculos como os índices de risco de Castelli-I e -II e a relação TG/HDL-C são muito comuns. Ainda assim, recentemente o não-HDL-C emergiu como um novo alvo para a prevenção do evento cardiovascular. As diretrizes da Sociedade Internacional de Aterosclerose e da Sociedade Brasileira de Cardiologia mencionam que o não-HDL-C é relevante para a prevenção e é um alvo terapêutico para o manejo de doenças cardiovasculares. O não-HDL-C é um cálculo do colesterol total menos o colesterol transportado pelas partículas de HDL e compreende o colesterol transportado por todas as partículas potencialmente aterogênicas, incluindo IDL, VLDL, LDL, quilomícrons e lipoproteínas remanescentes. Meta-análises anteriores mostraram que o não-HDL-C estava mais estreitamente correlacionado com o risco cardiovascular do que o LDL-C, mesmo no início do estudo e durante a terapêutica. Assim, por refletir toda a carga de colesterol transportado nas lipoproteínas aterogênicas, por ser crucial para a predição do risco de doenças cardiovasculares e por estar intimamente associado à progressão da placa, o objetivo do uso do colesterol não-HDL é estimar a quantidade plasmática circulante de lipoproteínas aterogênicas (Jacobson *et al.*, 2015; Zeb; Budoff, 2015; Puri *et al.*, 2016; Faludi *et al.*, 2017). No entanto, apesar de sua importância no diagnóstico e tratamento da dislipidemia, o não-HDL-C raramente é relatado em ensaios clínicos envolvendo procedimentos bariátricos.

A apolipoproteína AI (apoAI) é o principal componente do HDL-C antiaterogênico e a apolipoproteína B100 (apoB100) é a principal apolipoproteína encontrada em todas as lipoproteínas aterogênicas. Em numerosos estudos anteriores, altas taxas de apoB100/apoAI foram identificadas como um fator de risco para doenças cardiovasculares (Zhu *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2020; Forte *et al.*, 2022). Porém, medir as concentrações de apolipoproteína é muito difícil e caro. Na prática clínica, o valor de HDL-C reflete as concentrações plasmáticas de apoAI e o não-HDL-C reflete as concentrações plasmáticas de apoB100. Assim, os pesquisadores têm utilizado novos marcadores de risco cardiovascular que possuem proporções com componentes aterogênicos (que podem refletir perfil lipídico, equilíbrio aterogênico e metabolismo lipoproteico) no numerador e componentes

antiaterogênicos no denominador. Assim, a razão entre a medida de não-HDL-C e HDL-C, também chamada de “coeficiente aterogênico”, foi calculada no presente estudo. Este índice já foi relatado anteriormente e, juntamente com os outros “índices de lipoproteínas” ou “índices aterogênicos”, como são frequentemente chamados, foram superiores aos parâmetros lipídicos convencionais como preditores de doença arterial coronariana (Zhu *et al.*, 2015). Millán e colaboradores descreveram que a relação não-HDL/HDL-C é uma combinação linear de colesterol total/HDL-C e, embora poucos estudos tenham avaliado essa relação de lipoproteínas para prever doenças cardiovasculares, pode-se presumir que seja semelhante àquela da relação colesterol total/HDL -C ou relações LDL/HDL-C (Millán *et al.*, 2009). Contudo, dada a especificidade do não-HDL-C para lipoproteínas aterogênicas, este índice foi considerado superior na análise de risco de eventos cardiovasculares.

No presente estudo, quando comparados ao pré-operatório, todos os índices calculados apresentaram queda significativa seis meses após o procedimento cirúrgico. Para o índice de Castelli-I (relação colesterol total/HDL-C) e não-HDL/HDL-C, um aumento significativo foi observado um mês após a cirurgia. Embora o valor absoluto do não-HDL-C não tenha apresentado diferença significativa durante o seguimento, a razão utilizando esse valor no numerador mostrou diminuição no primeiro mês, confirmando o risco cardiovascular a que estão expostos os pacientes submetidos à cirurgia bariátrica no início do período pós-operatório. Assim, conclui-se que a perda substancial de peso após a cirurgia bariátrica leva à melhora dos perfis lipídico e glicêmico. Contudo, é muito importante alertar os profissionais de saúde para o acompanhamento destes indivíduos, principalmente durante a primeira fase ativa de perda de peso, uma vez que o risco cardiovascular aumenta nesta fase.

Um estudo anterior envolvendo parte da coorte envolvida no presente estudo revelou melhora metabólica após cirurgia bariátrica, inclusive com diminuição das concentrações circulantes de leptina e aumento da adiponectina. Entretanto, após seis meses de acompanhamento, não houve remissão da inflamação, avaliada pelas concentrações das citocinas pró-inflamatórias envolvidas na obesidade, SAA e MCP-1 (Bratti *et al.*, 2021). Sendo assim, a partir da observação do risco cardiovascular na atual coorte, foi realizado um estudo *in vitro* para avaliação da contribuição da inflamação nos desfechos cardiovasculares. No modelo proposto, a

linhagem celular HUVEC (células endoteliais humanas) foi incubada com meio de cultura enriquecido com marcadores inflamatórios, soro humano e insulina. Em relação ao controle, foram observadas concentrações aumentadas das citocinas TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL-6 nas células incubadas com diferentes concentrações de TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IFN- $\gamma$  e SAA. Além disso, foram observadas maiores concentrações de MCP-1 no sobrenadante celular incubado com o soro do participante portador de obesidade com a menor concentração de HDL-C 30 dias após a cirurgia bariátrica (19 mg/dL) e no sobrenadante celular incubado com 2 $\mu$ M de insulina. No meio com adição do soro do participante com concentração de HDL-C de 19 mg/dL foi observada uma tendência de aumento nas concentrações das citocinas IL-6 e TNF- $\alpha$ . No meio com adição de insulina, tendência de aumento também foi observada para as concentrações de IL-6.

O endotélio vascular é um poderoso regulador da função vascular. O revestimento endotelial responde a estímulos mecânicos e moleculares para regular a homeostase e a inflamação em toda a circulação. A disfunção das células endoteliais, caracterizada por resposta inflamatória e aumento da permeabilidade, é o passo inicial para a formação de lesões ateroscleróticas (Luscinskas; Gimbrone, 1996). A ativação das células endoteliais é aumentada por vários estímulos moleculares, incluindo LDL oxidado, citocinas, produtos finais de glicosilação avançada e moléculas associadas a patógenos (Cominacini *et al.*, 2000; (Collins *et al.*, 1995; Dauphinee; Karsan, 2006).

As condições inflamatórias sistêmicas, como é o caso da obesidade, são frequentemente marcadas por uma liberação intensa de citocinas. Já foi demonstrado que diversas citocinas, como SAA, MCP-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL1- $\beta$  induzem a transcrição de moléculas de adesão, como a molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) em processo dependente da via do NF- $\kappa$ B (Witting *et al.*, 2011; Nyat *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2019). A via do NF- $\kappa$ B é muito bem estabelecida como via de sinalização pró-inflamatória, em grande parte pela ativação do NF- $\kappa$ B por citocinas pró-inflamatórias, e pelo papel do NF- $\kappa$ B na expressão de outros genes pró-inflamatórios, incluindo citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão. A ativação do NF- $\kappa$ B agrava a resposta inflamatória ao regular positivamente as citocinas inflamatórias Perkins, 2007; Lawrence, 2009; Yu *et al.*, 2020). Além disso, a ativação do NF- $\kappa$ B está intimamente associada ao aumento da permeabilidade endotelial (De Martin *et al.*, 2000). O

aumento da permeabilidade endotelial inicia um fluxo transendotelial desregulado, levando à deposição anormal de lipídios e infiltração de células inflamatórias, o que promove resposta inflamatória e lesão endotelial (Claesson-welsh; Dejana; Mcdonald, 2021). Também já foi demonstrado em estudo anterior que o IFN- $\gamma$  é capaz de aumentar a permeabilidade de células endoteliais, em processo relacionado com a inibição da produção de NO (Ng *et al.*, 2016).

A disfunção endotelial dependente de NO é amplamente reconhecida como um passo inicial para a aterogênese. As células endoteliais regulam a homeostase dos vasos sanguíneos através da produção de NO como vasodilatador (Félétou, 2016; Förstermann; Xia; Li, 2017). De maneira geral, importantes fatores de risco cardiovascular levam a diminuição da produção de NO. Esses fatores de risco levam ao aumento da produção de EROs na parede do vaso, levando à redução da bioatividade do NO pela inativação do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e à diminuição da produção de NO através do desacoplamento da eNOS. Esses fatores são característicos de disfunção endotelial (Förstermann; Li, 2011). Em contrapartida, em situações com grande quantidade de liberação de estímulos inflamatórios, a óxido nítrico sintase induzível (iNOS) pode ser expressa em grandes quantidades e o NO produzido pode contribuir para a toxicidade, danos teciduais, estresse oxidativo, migração leucocitária (Guzik; Korb; Adamek-Guzik, 2003). Neste trabalho, não foram observadas diferenças entre as concentrações de NOx nos diferentes tratamentos a que as células endoteliais foram expostas.

A partir do estresse endotelial, a expressão de citocinas inflamatórias promove a infiltração de monócitos no endotélio vascular e leva à lesão endotelial. Em especial o MCP-1, um potente quimioatraente capaz de direcionar monócitos para permearem o subendotélio. Este processo é um dos primeiros eventos da aterosclerose. No espaço subendotelial os monócitos/macrófagos se tornam células espumosas e formam estrias gordurosas, que podem evoluir para placa aterosclerótica e resultar em doença cardiovascular (Niu; Kolattukudy, 2009). Neste trabalho, foi evidenciado que não somente células endoteliais expostas a agentes inflamatórios e insulina foram capazes de produzir MCP-1, mas também àquelas expostas a um soro de indivíduo obeso recém submetido a cirurgia bariátrica e com baixas concentrações circulantes de HDL-C, confirmando a relação entre baixas concentrações de HDL-C e maior probabilidade de eventos cardiovasculares.



Ademais, além de MCP-1, a estimulação das células endoteliais com um misto de pequenas concentrações de TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IFN- $\gamma$  e SAA foi capaz de aumentar as concentrações das citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-6 no sobrenadante celular. Estes resultados corroboram o papel das citocinas pró-inflamatórias na promoção e manutenção do estresse causado ao endotélio. Em contrapartida, exceto para o MCP-1, as células expostas a soros de diferentes indivíduos não tiveram aumento significativo de citocinas circulantes. Entretanto, apesar de não significativo, o sobrenadante das células incubadas com o soro do portador de obesidade com menor concentração de HDL-C no primeiro pós-operatório apresentou uma tendência de aumento para as citocinas TNF- $\alpha$  e IL-6, além de aumento significativo de MCP-1. Esses dados suportam o maior risco de desenvolvimento de eventos cardiovasculares nesse período.

O estresse oxidativo também tem sido implicado em uma variedade de fatores de risco que levam à aterosclerose. As fontes celulares de EROs são múltiplas e estudos anteriores descobriram que as EROs derivadas das mitocôndrias também são relevantes no contexto da aterosclerose e outras doenças vasculares, podendo induzir disfunção endotelial, infiltração e ativação de células inflamatórias e apoptose de células musculares lisas endoteliais e vasculares (Victor *et al.*, 2009; Hulsmans *et al.*, 2012). Vários eventos importantes ocorrem nas mitocôndrias, um dos mais significativos é a perda do potencial mitocondrial (GREEN; REED, 1998). Ao longo da vida de uma célula, a mitocôndria utiliza substratos oxidáveis para produzir um gradiente eletroquímico de prótons através da membrana mitocondrial que é usado para produzir energia. O interior da organela é eletronegativo e a direção do potencial da membrana mitocondrial transporta cátions para dentro e ânions para fora, promovendo o acúmulo de cátions nas mitocôndrias (Zorova *et al.*, 2018). O potencial de membrana mitocondrial diminui com a abertura dos poros de permeabilidade mitocondrial, ocasionando perda do gradiente eletroquímico. Dessa forma, o potencial de membrana mitocondrial é um parâmetro essencial da função mitocondrial que pode ser usado como um indicador da saúde celular, uma vez que as mitocôndrias disfuncionais são uma importante fonte de excesso de EROs que superam as defesas antioxidantes e contribuem para o estresse oxidativo que impulsiona a disfunção endotelial (Harrison *et al.*, 2003). Neste trabalho, com exceção do grupo tratado com DMEM enriquecido com 10% de soro de indivíduo de peso normal contendo concentrações de HDL-C de 32 mg/dL, a exposição aos

diferentes fatores resultou em perda do potencial de membrana mitocondrial, que pode estar associada ao aumento da produção de EROs pelas mitocôndrias e desencadear mitofagia e morte celular.

No seguimento do estudo clínico, vinte e sete participantes foram reavaliados 12 meses após o procedimento cirúrgico. Diferente do estudo anterior envolvendo parte dessa coorte (Bratti *et al.*, 2021), pôde-se observar melhora acentuada no perfil inflamatório dos pacientes, avaliada pela diminuição das concentrações dos marcadores de saúde cardiovascular não-HDL-C e TG, além dos marcadores inflamatórios IL-6, PCR, TNF- $\alpha$  e MCP-1. Entretanto, as concentrações circulantes de HDL-C não foram aumentadas nesse grupo de participantes, mesmo 12 meses após a cirurgia. Em um estudo publicado por Villarreal-Calderon e colaboradores em 2021, a mudança metabólica precedeu a resolução da inflamação em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica e metabólica. Ou seja, os parâmetros metabólicos diminuíram antes dos mediadores inflamatório. Sendo assim, os autores sugeriram que a melhora metabólica pode ser um fator determinante para que ocorra a resolução da inflamação (Villarreal-Calderon *et al.*, 2021).

Na etapa de determinação do tamanho de partícula da HDL, os valores variaram entre 10,34 e 14,85 nm no pré-operatório e entre 9,946 e 14,34 nm um ano após a intervenção cirúrgica. Estes valores estão dentro no valor de referência estabelecido (7-17 nm) confirmando a presença da HDL. A diferença do tamanho de partícula entre os períodos não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Apesar de não haver um consenso, a literatura sugere que com a mudança ocasionada no perfil lipídico-lipoproteico pela cirurgia bariátrica e, conseqüentemente, diminuição do risco cardiovascular, seria esperado um aumento na proporção das subfrações de HDL grandes (HDL2), ateroprotetoras e mais funcionais, e diminuição na proporção de subfrações menores (HDL3), aterogênicas e menos funcionais (Ineu *et al.*, 2006; Hutchins *et al.*, 2014). Apesar de as técnicas de separação apresentarem valores com pequenas diferenças, a HDL2 ou HDL grande é considerada em uma faixa de tamanho entre 8,8 e 13 nm. Os resultados encontrados nesta coorte variaram entre 9,946 e 14,85 nm, independente do período analisado. Numericamente, os valores encontrados estariam dentro do esperado para a classificação de HDL grande ou HDL2. Entretanto, é importante ressaltar que não foi realizado método de separação para as subfrações de HDL nesse trabalho e, portanto, não há certeza da porcentagem representativa de cada subfração. A partir da análise individual dos

tamanhos de partícula pôde-se observar que a maioria dos pacientes apresentaram pequenas reduções no tamanho da HDL. Entretanto, mesmo com essa pequena diminuição, os valores continuaram na faixa de tamanho prevista para a HDL<sub>2</sub>, sendo improvável ter ocorrido redução da subfração das HDL grandes (ateroprotetoras). Todavia, para a confirmação desses resultados é necessária a realização de um método de separação das subfrações, como eletroforese em gel de policriamida ou espectroscopia por ressonância magnética.

Por fim, considerando que muitos estudos apoiam a hipótese de que baixas concentrações de HDL-C são preditores de risco cardiovascular e considerando os resultados encontrados, o presente capítulo enfatiza o risco cardiovascular a que os participantes dessa coorte estão expostos. Neste trabalho, os participantes apresentaram diminuição considerável e muito rápida de HDL-C no primeiro mês pós-operatório e não apresentaram elevação significativa das concentrações circulantes dessa lipoproteína no pós-operatório, mesmo um ano após o procedimento bariátrico. Entretanto, em relação aos demais marcadores metabólicos e de inflamação, uma melhora considerável foi observada em longo prazo. Em relação ao tamanho da partícula de HDL, não foram encontradas diferenças significativas antes e após a cirurgia. Ainda, o estudo *in vitro* realizado mostrou que componentes inflamatórios, insulina e o soro de um participante do estudo portador de obesidade e com baixa concentração de HDL-C 30 dias após a cirurgia bariátrica foram capazes de provocar estresse em células endoteliais, avaliado pelo aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias.

## **5 CAPÍTULO III - ABORDAGEM *IN SILICO* PARA IDENTIFICAR VARIANTES MISSENSE NÃO SINÔNIMAS EM GENES HUMANOS RELACIONADOS À OBESIDADE: ANÁLISES EM VARIANTES RELATADAS EM BANCOS DE DADOS BRASILEIROS**

### **5.1 REVISÃO DA LITERATURA**

Até meados dos anos 70 a obesidade era extremamente rara, representando menos de 5% dos indivíduos de todo o mundo. Isso ocorria pois não havia condições que permitissem um balanço energético positivo sustentado necessário para o desenvolvimento de sobrepeso ou obesidade. Com exceção de animais que hibernam, migram ou que usam a gordura como isolamento térmico - ou seja, casos em que a deposição de gordura se dá exclusivamente para lidar com períodos limitados de extremo balanço energético negativo, não caracterizando um estado crônico - a maioria dos animais selvagens têm menos de 5% de gordura corporal e não são vulneráveis à obesidade (Speakman, 2013).

Seguindo na linha evolutiva, os povos chamados de caçadores-coletores eram aqueles que viviam da caça e não praticavam agricultura, pecuária e não armazenavam alimentos. Os caçadores-coletores realizavam mais de duas horas por dia de atividade física moderada a vigorosa, tinham uma média de gordura corporal de 10–15% entre os homens e 15–25% entre as mulheres e tinham incidência de obesidade menor que 5%, além de raros casos de doenças metabólicas e cardiovasculares (Eaton; Konner; Shostak, 1988; Pontzer; Wood; Raichlen, 2018).

Com o surgimento da agricultura, os relatos de obesidade e doenças metabólicas também foram raros entre os agricultores de subsistência. Quando comparados aos caçadores, ainda que os primeiros agricultores tenham tido mais acesso a alimentos, os níveis de atividade física eram muito altos e esses indivíduos passavam regularmente por períodos de escassez de alimentos entre as colheitas e fomes ocasionais (Lindeberg *et al.*, 1994; Mbalilaki *et al.*, 2010; Gurven *et al.*, 2013).

Com o surgimento da revolução industrial e a disseminação do capitalismo, houve um aumento na disponibilidade de alimentos ricos em energia, com adição de gorduras e carboidratos refinados, além do advento de tecnologias que tornaram a atividade física menos necessária. A soma desses fatores tornou possível um

balanço energético positivo de longo prazo e em algum momento durante a evolução os humanos desenvolveram uma propensão para armazenar e reter energia como gordura nos adipócitos, que se tornou incompatível com o estilo de vida atualmente inativo e com livre acesso a alimentos abundantes, aumentando as taxas de obesidade em todo o mundo (Fogel; Grotte, 2011).

A obesidade é uma doença multifatorial complexa associada a um estado inflamatório crônico de baixo grau, resultante de um desequilíbrio crônico de energia. O rápido aumento da prevalência da obesidade na população nas últimas décadas tem sido atribuído a um ambiente “obesogênico”, que são os fatores físicos, econômicos, políticos, sociais e culturais que promovem a obesidade, ou seja, ambientes que oferecem fácil acesso a alimentos com alto teor calórico e que limitam à prática de atividades físicas. A epidemia de obesidade pode ser considerada uma resposta coletiva a esse ambiente que promove ganho de peso. Entretanto, mesmo em um ambiente obesogênico, nem todos desenvolvem obesidade. Sendo assim, a obesidade resulta de uma interação entre fatores biológicos inatos e ambientais, ou seja, da associação de características ambientais com características genéticas e epigenéticas. Dessa forma pode-se inferir que existe um forte componente genético associado à grande variação interindividual no peso corporal que determina diferentes respostas a esse ambiente obesogênico (Mayoral *et al.*, 2020). Nesse contexto, muitos estudos prévios - incluindo estudos envolvendo famílias, gêmeos e adoção - têm reconhecido que a genética desempenha um grande papel na obesidade, com a hereditariedade genética da obesidade estimada em 40 a 70% (Elks *et al.*, 2012; Singh; Kumar; Mahalingam, 2017; Dubern, 2019).

### **5.1.1 Genética da obesidade**

A hipótese do “genótipo econômico” foi descrita em meados dos anos 60 e sugere que a regulação da energia humana está preparada para proteger contra a perda de peso, ao invés de controlar o ganho de peso. Essa hipótese sugere que os mesmos genes que ajudaram as populações ancestrais a sobreviver a fomes ocasionais agora estão sendo desafiados por ambientes em que a comida é abundante o ano todo (Neel; Salzano, 1967).

Quanto ao componente genético, a obesidade pode ser classificada como obesidade monogênica e poligênica (não sindrômicas) ou obesidade sindrômica. O

termo “obesidade sindrômica” é frequentemente usado para descrever crianças e adultos com obesidade e fenótipos adicionais, como deficiências do neurodesenvolvimento (deficiência intelectual ou atraso cognitivo), dismorfismo craniofacial, anormalidades específicas de órgãos, diferentes malformações congênitas, hiperfagia e/ou outros sinais de disfunção hipotalâmica. A obesidade sindrômica é rara, tem alta variabilidade fenotípica e pode ser herdada de forma autossômica ou ligada ao cromossomo X e pode ser causada por variantes genéticas de novo. Esse tipo de obesidade geralmente segue um padrão monogênico de herança (Singh; Kumar; Mahalingam, 2017; Kehinde *et al.*, 2022). A forma sindrômica mais comum de obesidade é relacionada a síndrome de Prader Willi, com incidência aproximada de um em 25.000 nascidos vivos. Cerca de 70% dos casos são resultantes da perda de expressão dos genes paternos na região q11–13 do cromossomo 15. Dentre outros fenótipos, essa síndrome é caracterizada por hipotonia intrauterina e neonatal, dismorfismo craniofacial, deficiência no desenvolvimento neurológico, alterações hormonais com atraso no desenvolvimento sexual e baixa estatura, má alimentação e déficit de crescimento que evolui para hiperfagia extrema que pode surgir entre os dois e cinco anos de idade e levar a obesidade ainda na infância (Angulo; Butler; Cataletto, 2015; Kehinde *et al.*, 2022). Entretanto, o entendimento detalhado da obesidade sindrômica está além do escopo deste trabalho.

Já a obesidade não sindrômica pode ser classificada em dois grandes grupos, obesidade monogênica e obesidade poligênica. A obesidade monogênica costuma tratar-se de condições que podem ser determinadas por uma variante genética específica, herdada em um padrão mendeliano, tipicamente rara e com início precoce. Em contrapartida, a chamada obesidade poligênica é resultante de uma herança multifatorial, ou seja, é o resultado de centenas de polimorfismos com um pequeno efeito cada um, que segue um padrão de hereditariedade semelhante a outras características e doenças complexas. A obesidade poligênica é condicionada por fatores ambientais que interagem com fatores genéticos cruciais (Stryjecki; Alyass; Meyre, 2018). O sistema nervoso central e as vias neuronais que controlam fome e saciedade são os principais determinantes do peso corporal, tanto para obesidade monogênica, quanto para a poligênica. Um estudo realizado em 2020 mostrou que uma baixa suscetibilidade poligênica do indivíduo à obesidade, além de

ambientes e comportamentos potencialmente mais saudáveis, podem influenciar a expressão de variantes que causam obesidade monogênica (Chami; *et al.*, 2020).

Com o aumento dos estudos de associação do genoma (GWAS) (Claussnitzer *et al.*, 2015; Locke *et al.*, 2015; Turcot *et al.*, 2018), atualmente sabe-se que mais de 50 genes são componentes diretamente relacionados à obesidade. Embora as mudanças ambientais, como a redução da atividade física combinada com o aumento da ingestão calórica devido aos alimentos industrializados e palatáveis, tenham aumentado significativamente as taxas de obesidade nos últimos 20 anos, fatores genéticos presentes ou ausentes podem proteger ou predispor à obesidade (Choquet; Meyre, 2011).

#### *5.1.1.1 Regulação neuroendócrina da ingestão alimentar*

O entendimento da forma como ocorre a regulação do peso corporal é fundamental para elucidação do componente genético dos diversos tipos de obesidade. O equilíbrio entre a ingestão calórica e o gasto energético é formado por sistemas que garantem energia adequada para a execução das funções fisiológicas (Sandoval; Cota; Seeley, 2008). O peso corporal é regulado por um sistema fisiológico complexo que requer integração de múltiplos sinais periféricos que convergem para sinais que culminam no cérebro. O hipotálamo e suas vias de sinalização atuam como regulador central da homeostase e do balanço energético, recebendo informações por meio de sinais neuronais e hormonais periféricos para vários núcleos teciduais, especialmente os núcleos ventromedial, paraventricular e arqueado e para a área hipotalâmica lateral. Após isso, esses núcleos teciduais possuem a função de integrar informações periféricas dos estoques energéticos com a finalidade de modular o gasto energético e a ingestão alimentar. Sendo assim, podem estar ligados a fatores genéticos decisivos na susceptibilidade de um indivíduo ao ganho de peso (Xu *et al.*, 2003; Singh; Kumar; Mahalingam, 2017). Em particular, a via do MC4R tem a capacidade de integrar o controle da ingestão de alimentos e a produção de hormônios do balanço energético, como insulina e leptina. Dessa forma, é uma via de extrema importância no controle do peso corporal (Baldini; Phelan, 2019).

No hipotálamo, o núcleo arqueado desempenha um papel essencial no controle da homeostase e do balanço energético, uma vez que contém duas

subpopulações de neurônios que agem como sensores de primeira ordem para os sinais que chegam da periferia. Essas duas subpopulações de neurônios produzem proteínas específicas, são elas: a proteína relacionada à agouti (AGRP) - um antagonista dos receptores de melanocortina - e neuropeptídeo Y (NPY), além do pró-opiomelanocortina (POMC) e do transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART). A ativação dos neurônios NPY/AGRP tem efeito orexígeno, promovendo a ingestão alimentar e redução do gasto energético, enquanto os neurônios POMC/CART têm efeito completamente oposto, anorexígeno, com diminuição da ingestão alimentar e aumento do gasto energético. (Spiegelman; Flier, 2001; Barsh; Schwartz, 2002; Abdalla, 2017). A ação dos hormônios que potencializam o efeito anorexígeno ocorre a partir da ativação de neurônios no núcleo arqueado hipotalâmico que expressam POMC que são processados pós-traducionalmente para produzir os peptídeos de melanocortina (alfa, beta e gama MSH), que são agonistas nos receptores de melanocortina 3 (MC3R) e MC4R, expressos em neurônios de segunda ordem (Grill, 2006; Morton *et al.*, 2006).

Diversos hormônios endócrinos sinalizam para os neurônios NPY/AGRP e POMC/CART. Após a ingestão de alimentos, o pâncreas secreta insulina, que exerce seus efeitos através do receptor de insulina; e o tecido adiposo secreta leptina, que exerce seus efeitos através do receptor de leptina (LEPR); ambos inibem os neurônios NPY/AGRP e estimulam os neurônios POMC/CART, ou seja, exercem influência anorexígena no núcleo arqueado (Friedman; Halaas, 1998; Air *et al.*, 2002). Além desses hormônios, a grelina, produzida pelo estômago e duodeno, estimula os neurônios NPY/AGRP por meio do seu receptor secretagogo do hormônio do crescimento (GHSR). Antagonicamente, a grelina promove efeito inibitório sobre os neurônios POMC/CART. Nesse caso, os neurônios NPY/AGRP têm um efeito inibitório sobre os neurônios POMC/CART através da liberação pré-sináptica de ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), estimulada pela ligação da grelina aos GHSR (Kohno *et al.*, 2003). O peptídeo YY (PYY) é secretado das células L do trato gastrointestinal no período pós-prandial e sinaliza através do receptor Y2 (Y2R) inibindo os neurônios NPY/AGRP (Konturek *et al.*, 2004).

A partir dessa sinalização, os sinais orexígenos e anorexígenos produzidos pelos neurônios NPY/AGRP e POMC/CART são então enviados para neurônios efetores *downstream* de segunda ordem, que expressam receptores que incluem o receptor Y1 (Y1R) e o MC4R e também podem sofrer influências de



neurotransmissores como serotonina, norepinefrina, dopamina e endocanabinóides. Essa rede de comunicação é formada para orquestrar o equilíbrio entre a ingestão de alimentos e o gasto de energia (Spiegelman; Flier, 2001; Abdalla, 2017).

O principal hormônio que atua na regulação dessas vias é a leptina, um peptídeo produzido e secretado pelos adipócitos e que circula em concentrações proporcionais aos estoques de tecido adiposo, sinalizando para o hipotálamo informações sobre os estoques lipídicos presentes no tecido adiposo (Pan; Myers, 2018). A leptina está envolvida na regulação da adiposidade a longo prazo, enquanto outros peptídeos como a grelina e o PYY, são responsáveis pela regulação do apetite a curto prazo. Por ter concentrações plasmáticas altamente correlacionadas com o número de adipócitos e seu teor de lipídeos, a leptina parece ser o principal indicador de adiposidade e sinalizador do estado nutricional (Friedman; Halaas, 1998).

O gene *ob* da leptina localiza-se no cromossomo 7q31 e a leptina apresenta os receptores ObRb de cadeia longa com grande expressão no núcleo arqueado hipotalâmico, mais precisamente no hipotálamo ventromedial e dorsomedial, na área hipotalâmica lateral e na área pré-óptica medial. Conforme relatado anteriormente, a leptina aumenta a expressão dos neurônios anorexígenos POMC/CART e antagoniza a atividade dos neurônios orexígenos NPY/AGRP (Grill, 2006; King, 2006; Morton *et al.*, 2006). A ligação da leptina ao LEPR promove dimerização e mudança conformacional do receptor ObRb que induz atividade catalítica da proteína Janus Quinase -2 (JAK-2), associada ao receptor e responsável pela fosforilação e ativação do fator de transcrição 3 (STAT3). A leptina estimula a atividade da STAT3 nos neurônios POMC pelo recrutamento das histonas acetilases, conseqüentemente, o STAT3 inibe a expressão do RNAm dos neurônios AGRP, e possivelmente do NPY, pelo recrutamento das histonas deacetilases. O aumento da atividade dos neurônios POMC induz ao aumento da expressão dos neurônios CART. Este mecanismo hipotalâmico recebe informações referentes à quantidade de energia armazenada no tecido adiposo e a resposta termogênica nos terminais sinápticos, confirmando a participação da leptina no controle da saciedade (Morton *et al.*, 2006; Baldini; Phelan, 2019).

Além disso, o hormônio estimulador de  $\alpha$ -melanócitos ( $\alpha$ -MSH), sintetizado pela POMC e estimulado pela leptina, se liga aos MC3R e MC4R regulando o peso corporal e controlando a ingestão calórica. Os MC3R são expressos principalmente

no sistema nervoso central, mas também na placenta, intestino, timo e adipócitos e sua ligação ao  $\alpha$ -MSH, principalmente nos adipócitos, culmina em função no gasto energético e na lipólise. O MC4R é expresso principalmente no hipotálamo e a sua ligação ao  $\alpha$ -MSH tem importante função no controle da saciedade. A síntese da leptina e a expressão dos MC4R tem um importante papel inibitório da proteína quinase ativadora mitogênica (AMPK) no hipotálamo paraventricular. Estudos anteriores relataram que animais tratados com leptina demonstraram supressão significativa da atividade da AMPK no hipotálamo (Friedman; Halaas, 1998; (Minokoshi *et al.*, 2004; Morton *et al.*, 2006). A AMPK desempenha um papel importante na regulação da oxidação de ácidos graxos no músculo esquelético e é ativada quando a proporção AMP/ATP aumenta em resposta à diminuição das concentrações de ATP, por consequência, reflete na oxidação dos ácidos graxos para obtenção de ATP e na inibição das vias metabólicas para consumo de ATP. A ingestão alimentar hipercalórica associada à redução do gasto energético promove o aumento significativo das concentrações séricas de leptina. Contudo, na busca pela homeostase energética ocorre o aumento significativo da síntese de leptina pelos adipócitos com intuito de promover a lipólise e inibir a lipogênese (Frühbeck *et al.*, 2001; Minokoshi *et al.*, 2004).

Este sistema regulador costuma ser muito eficiente na proteção contra a perda de peso, entretanto, o aumento da leptina em resposta ao aumento da adiposidade tem efeito limitado na redução da ingestão alimentar e na prevenção da obesidade. Sendo assim, essa regulação pode falhar na proteção contra o ganho de peso. Têm sido descrito que a obesidade parece favorecer a resistência da leptina em se acoplar ao seu receptor hipotalâmico por vários fatores, dentre eles anormalidades na secreção de leptina, comprometimento no transporte de leptina, a presença de reguladores negativos da leptina e sinalização hipotalâmica reduzida (Friedman; Halaas, 1998; Schwartz *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2004; Grill, 2006). Assim, o papel antiobesidade da leptina é limitado pela resistência a sua sinalização, que pode ter sido amplificado em resposta à pressão evolutiva para promover o acúmulo de gordura e proteger contra a fome (Spiegelman; Flier, 2001).

#### 5.1.1.2 Obesidade Monogênica

Nas décadas de 1950 e 1960, certos genes e vias ligadas à regulação do peso corporal foram identificados inicialmente em camundongos com hiperfagia severa e obesidade espontânea, como as linhagens de camundongos portadores de obesidade (*ob*) (Ingalls; Dickie; Snell, 1950) e diabetes (*db*) (Hummel; Dickie; Coleman, 1966). Através de técnicas de genética reversa e clonagem posicional, foi demonstrado que o gene *ob* codifica a leptina e a deficiência de leptina resultante dessa variante genética causou a obesidade severa e DM2 em camundongos (Zhang *et al.*, 1994). Além disso, foi identificado que o gene *db* é um codificador do LEPR (Chen *et al.*, 1996) e que um fenótipo de obesidade de camundongos ligado a AGRP é relacionado a uma variante que causa superexpressão ectópica do gene *agouti*, que antagoniza os receptores de melanocortina, ligando a via da melanocortina à regulação do peso corporal (Bultman; Michaud; Woychik, 1992).

Dessa forma, uma série de novos genes candidatos à obesidade foi revelada. Atualmente é bem estabelecido que variantes em genes que codificam proteínas chaves na regulação do apetite são responsáveis por distúrbios mendelianos nos quais a obesidade é o fenótipo mais comum e óbvio. A obesidade monogênica é causada principalmente por variantes genéticas em genes únicos e é responsável por um pequeno número de casos extremos de obesidade de início precoce. A maioria das variantes monogênicas da obesidade foi identificada em coortes de indivíduos que desenvolveram obesidade antes dos 10 anos de idade. (Lotta *et al.*, 2019).

Estudos desta forma rara de obesidade identificaram variantes genéticas em diversos genes e forneceram informações iniciais sobre a patogênese da obesidade (Brouwers *et al.*, 2021). A maioria dos genes responsáveis pela obesidade monogênica está envolvida na via leptinérgica-melanocortinérgica. Genes notáveis incluem aqueles que codificam leptina, LEPR, MC4R, POMC e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Frank *et al.*, 2011). Variantes genéticas em MC4R contribuem para a forma monogênica mais comum de obesidade, respondendo por 2% a 3% dos casos de obesidade na infância e na idade adulta, enquanto variantes raras na leptina e no LEPR demonstram os tamanhos de efeito mais fortes (Lotta *et al.*, 2019).

Nos anos 1990 foram identificados os primeiros humanos com deficiência congênita de leptina (Montague *et al.*, 1997) e o papel fundamental da leptina em algumas formas monogênicas de obesidade foi relatado por Farooqi e colaboradores

em 1999. Nesse trabalho, uma criança de nove anos de idade com obesidade grave e deficiência congênita de leptina recebeu injeção subcutânea diária de leptina humana recombinante por um ano. Os resultados da reposição de leptina foram redução de peso sustentada com remissão completa da obesidade (Farooqi *et al.*, 1999).

Conforme relatado anteriormente, as formas de obesidade autossômica dominante mais frequentes são provenientes de variantes no gene que codifica o MC4R. Em crianças com essas variantes, o grau de hiperfagia e obesidade pode ser facilmente correlacionado a extensão do comprometimento da sinalização MC4R, entretanto, essa correlação se perde em portadores adultos desses tipos de variantes, que inclusive tem fenótipos muito parecidos com indivíduos com obesidade não portadores de variantes em MC4R (Vaisse *et al.*, 2000). Além disso, durante a infância, os portadores dessas variantes tem intensa sensação de fome e elevadas concentrações de insulina, que também diminuem a partir da adolescência (Farooqi *et al.*, 2000). Em um estudo experimental realizado com camundongos nocaute para MC4R, os animais que foram alimentados com dietas com baixo teor de gordura não se mostraram hiperfágicos quando a ingestão de alimentos foi corrigida para massa magra, entretanto, a hiperfagia foi observada após a introdução de dietas com maior teor de gordura, podendo indicar interações entre os genes e o ambiente e ajudar a explicar como efeitos ambientais sobre genes envolvidos no controle da ingestão alimentar contribuíram para o aumento da obesidade infantil nas últimas décadas (Butler; Cone, 2003).

A consanguinidade tem sido fundamental na elucidação de muitas doenças genéticas mendelianas e, como a obesidade monogênica costuma seguir um padrão de herança recessiva, isso aumenta a chance de variantes devido a maiores chances de homozigose de variantes deletérias (Farooqi; O'rahilly, 2006). Embora a obesidade seja o distúrbio mais hereditário, mesmo em populações endogâmicas, apenas 2% a 5% dos casos de obesidade grave foram comprovados como sendo causados por variantes em um único gene. Em uma população paquistanesa altamente consanguínea foi identificada uma proporção notavelmente maior de casos de obesidade devido a variantes monogênicas nos genes que codificam leptina, LEPR e MC4R, podendo explicar até 30% dos casos de obesidade grave em crianças daquela população (Saeed *et al.*, 2015; Saeed, 2018; (Saeed *et al.*, 2020).

### 5.1.1.3 Obesidade Poligênica

Um estudo realizado com gêmeos em 1977 indicou pela primeira vez a possibilidade de que a agregação familiar observada em fatores como pressão arterial, intolerância à glicose, ácido úrico, TG e, possivelmente, obesidade, era resultante da influência genética, e não apenas de fatores ambientais, como se acreditava anteriormente (Feinleib *et al.*, 1977). Na década seguinte, Stunkard e colaboradores realizaram três estudos envolvendo gêmeos e adoção. No primeiro, realizado com gêmeos, os pesquisadores estimaram um padrão de hereditariedade para altura, peso e IMC (Stunkard; Foch; Hrubec, 1986). O segundo, realizado com indivíduos adotados, demonstrou uma forte relação entre a classe de peso dos adotados e o índice de massa corporal de seus pais biológicos. Além disso, não houve relação entre a classe de peso dos adotados e o índice de massa corporal de seus pais adotivos (Stunkard *et al.*, 1986). O terceiro estudo avaliou gêmeos monozigóticos e dizigóticos que foram criados juntos e separados e concluiu que as influências genéticas no índice de massa corporal são substanciais, enquanto o ambiente da infância tem pouca ou nenhuma influência. Além disso, o ambiente compartilhado parecia não ter efeito mensurável e o ambiente pessoal não compartilhado entre os gêmeos contribuiu com cerca de 30% da variação (Stunkard *et al.*, 1990). Posteriormente, vários outros estudos utilizando medidas como dobras cutâneas, distribuição de gordura e circunferência da cintura foram realizados na tentativa de estimar a hereditariedade da obesidade (Hasstedt *et al.*, 1989) (Katzmarzyk *et al.*, 2000).

Um estudo realizado para avaliar a contribuição de uma dieta hipercalórica também foi realizado com gêmeos. Como resultados da intervenção hipercalórica por 84 dias, a similaridade dentro de cada par de gêmeos na resposta à superalimentação foi significativa com relação ao peso corporal, porcentagem de gordura, massa gorda e gordura subcutânea estimada, com cerca de três vezes mais variação entre pares do que dentro dos pares. Alguns pares de gêmeos ganharam apenas 4,3 kg e outros até 13,3 kg. Após o estudo, a maioria dos participantes retornou espontaneamente ao seu comportamento original de ingestão de alimentos e perdeu peso, e essa redução também foi determinada geneticamente (Bouchard *et al.*, 1990). O mesmo padrão de resposta foi observado em estudo realizado em gêmeas portadoras de obesidade com intervenção hipocalórica por 40

dias. Houve grande variabilidade entre os pares na perda de peso e gordura corporal, mas não entre os integrantes de cada par, sugerindo forte contribuição genética (Hainer *et al.*, 2001). Além disso, em um estudo realizado com índios propensos à obesidade, o grau de miscigenação foi inversamente correlacionado com obesidade e diabetes, indicando que os genes misturados têm um forte efeito na suscetibilidade a doenças, corroborando a influência de fatores genéticos na obesidade (Williams *et al.*, 2000).

Com o crescente número de evidências da contribuição genética para o desenvolvimento da obesidade, muitos pesquisadores se dedicaram a entender essa contribuição para explorar possibilidades terapêuticas. A análise dos genes que influenciam a obesidade poligênica - também chamada de obesidade comum - típica na população em geral, começou com estudos de genes candidatos e estudos de ligação do genoma. Os estudos de genes candidatos surgiram na década de 90 e consistem em uma abordagem baseada em hipóteses para estudar o efeito de um determinado gene na suscetibilidade ao fenótipo em estudo. No caso da obesidade, a identificação de moléculas sinalizadoras como a leptina e o POMC foi crucial para o início dos estudos que, nesse caso, procuraram validar genes identificados por meio de modelos humanos e animais de obesidade extrema para um papel na obesidade comum. Muitos genes foram estudados como candidatos, mas variantes em apenas poucos deles (dentre eles BDNF e MC4R) mostraram associação com fenótipos de obesidade (Benzino *et al.*, 2008; Kurokawa *et al.*, 2008; Shugart *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010). Já o estudo de ligação do genoma, método que leva em consideração o parentesco para analisar se algumas regiões cromossômicas carregam uma doença ou característica ao longo das gerações, identificou centenas de loci cromossômicos com evidências de envolvimento com a obesidade, entretanto, nenhum foi mapeado para identificar genes causais (Rankinen *et al.*, 2006).

Apesar das abordagens citadas anteriormente, o estudo de genes candidatos à obesidade alavancou com o surgimento dos GWAS. O GWAS é uma ferramenta utilizada no estudo de relação entre características fenotípicas e genótipo e envolve o levantamento dos genomas de muitas pessoas, procurando variantes genômicas que ocorrem com mais frequência naqueles com uma doença ou característica específica em comparação com aqueles sem o fenótipo estudado. Uma vez que essas variantes genômicas são identificadas, elas são normalmente usadas para

procurar variantes próximas que contribuem diretamente para a doença ou característica. Com o tempo, o GWAS cresceu significativamente em termos de tamanho de amostra, passando de tamanhos de amostra iniciais muito pequenos para centenas de milhares de indivíduos (Loos, 2020). O primeiro GWAS foi publicado em 2005 e, depois disso, estudos envolvendo essa abordagem decolaram exponencialmente (Klein *et al.*, 2005).

Em 2007 foram descritos os primeiros estudos envolvendo obesidade, que ligaram uma série de variantes do gene FTO ao IMC e outras características relacionadas à obesidade como circunferência do quadril e peso corporal. Esse GWAS foi realizado com tamanho de amostra aproximado de 5.000 indivíduos (Frayling *et al.*, 2007; Scuteri *et al.*, 2007). Com a evolução e popularização desses estudos, o GWAS mais recente relacionado ao IMC incluiu mais de 700.000 indivíduos, identificou mais de 750 loci significativos em todo o genoma, que, combinados, explicaram 6% da variação no IMC (Yengo *et al.*, 2018). Além disso, já foram realizados estudos avaliando outras características ligadas à obesidade, como percentual de gordura, concentrações de leptina e LEPR, e até mesmo com indivíduos magros metabolicamente saudáveis, identificando genes que previnem o ganho excessivo de peso e seriam fatores protetores contra o desenvolvimento da obesidade (Sun *et al.*, 2010; Kilpeläinen *et al.*, 2016; Lu *et al.*, 2016; Riveros-Mckay *et al.*, 2019; Orthofer *et al.*, 2020).

Os GWAS encontraram mais de 50 genes associados à obesidade, a maioria com efeitos muito pequenos. Vários desses genes também têm variantes associadas à obesidade monogênica, um fenômeno observado em muitas outras condições comuns. A maior parte da obesidade parece ser multifatorial, ou seja, resultado de interações complexas entre muitos genes e fatores ambientais. Por esse motivo, alguns GWAS tentaram integrar fatores relacionados ao estilo de vida, como prática de atividades físicas e dieta, além de fatores como sexo e idade (Winkler *et al.*, 2015; Graff *et al.*, 2017). As análises de interação gene-ambiente são um desafio aos pesquisadores, com poucos resultados até o momento. Entretanto, em portadores de uma variante no gene FTO, a prática de atividades físicas e a manutenção de uma dieta saudável foram capazes de atenuar o risco de obesidade em até 27% (Kilpeläinen *et al.*, 2011; Qi *et al.*, 2014). A natureza multifatorial da obesidade poligênica e as influências exercidas pelos hábitos e pelo ambiente revelam o quão desafiador é o estudo dessa doença.

## 5.1.2 Termos e definições genéticas

### 5.1.2.1 Variantes

Quanto a terminologia, uma mutação é definida como uma alteração permanente na sequência de nucleotídeos, enquanto um polimorfismo é definido como uma variante com frequência superior a 1%. Os termos “mutação” e “polimorfismo” são amplamente utilizados e muitas vezes levam à confusão devido a suposições incorretas de efeitos patogênicos e benignos, respectivamente. Dessa forma, o Colégio Americano de Genética e Genômica (ACMG) recomenda que ambos os termos sejam substituídos pelo termo “variante” (Richards *et al.*, 2015).

A partir da observação de que a resposta biológica ao aumento do consumo alimentar ou redução do gasto energético é altamente variável entre os indivíduos e com a popularização dos estudos genéticos, a investigação dos efeitos genéticos sobre o peso corporal se faz necessária. Diferentes tipos de variantes e suas consequências fenotípicas, além da frequência populacional, medeiam esses efeitos. Variante, no contexto de genética e genômica, significa qualquer diferença entre a sequência do genoma de um indivíduo em relação a um genoma de referência. Variantes com frequência de alelos menores (MAF) de 5% em uma população são consideradas comuns, entre 1 e 5% são consideradas intermediárias e aquelas com frequência menor que 1% são consideradas raras. As variantes podem incluir inserções e deleções de pares de bases, que são variações no número de cópias nas quais um trecho de DNA é repetido ou excluído, e variantes de nucleotídeo único (Van der Klaauw; Farooqi, 2015).

As inserções ou deleções de nucleotídeos são altamente abundantes em genomas humanos, correspondendo ao segundo tipo de variação genética mais comum. São também chamadas de indels e consistem na adição ou remoção de um ou mais nucleotídeos na sequência de DNA, ou até na duplicação, em que um pedaço de DNA é copiado de maneira anormal uma ou mais vezes. Quando esses tipos de variantes ocorrem dentro dos éxons (região codificante) podem resultar dois diferentes tipos de variantes baseados no “quadro de leitura”, que consiste em grupos de três bases (códon) que codificam para um aminoácido. Esses dois tipos de variantes causam diferentes consequências sobre a proteína codificada. Quando ocorre a inserção ou deleção de um número de nucleotídeos que não é múltiplo de



três, essa variante afeta o quadro de leitura do código genético (o agrupamento dos códons) e pode resultar em uma inclusão de um sinal de parada prematuro da formação da proteína, ou ainda o alongamento dela. Essa variante é chamada de *frameshift*. Em contrapartida, quando ocorre a inserção ou deleção de um número de nucleotídeos múltiplo de três pares de bases, o resultado é a inserção ou deleção de um ou mais aminoácidos, mantendo o restante da sequência da proteína inalterada. Essa variante é chamada de não *frameshift*, já que não altera o quadro de leitura (Weber *et al.*, 2002; Bhangale *et al.*, 2005; Mills *et al.*, 2006).

As variantes de nucleotídeo único são alterações de um único nucleotídeo na sequência de DNA e consistem nas variações genéticas mais frequentes no genoma humano. Apesar da recomendação da ACMG para a unificação de nomenclatura, essas variantes são amplamente difundidas na comunidade acadêmica como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e serão chamadas assim neste trabalho. Quando os SNPs são encontrados em regiões codificantes, podem ser classificados em sinônimos e não sinônimos. Os SNPs sinônimos ou silenciosos consistem em uma substituição de nucleotídeos que não resulta em uma mudança no aminoácido. Isso é possível porque vários códons codificam o mesmo aminoácido. SNPs não sinônimos (nsSNPs) são variações de nucleotídeo único que modificam aminoácidos codificados. Eles podem levar a variantes *missense* ou *nonsense*, que podem causar modificação estrutural da proteína e suas interações com proteínas e exercer possíveis efeitos funcionais. Os nsSNPs *missense* podem ou não resultar em uma variante patogênica dependendo do efeito da substituição de aminoácidos na função e estrutura da proteína, enquanto os *nonsense* consistem em uma substituição de nucleotídeos que resulta em um códon de parada e, conseqüentemente, no término prematuro da proteína, produzindo uma proteína encurtada que provavelmente não é funcional. Essas variações têm sido amplamente estudadas e podem ser complexas e frequentes na gênese de doenças como a obesidade (Yates; Sternberg, 2013; Richards *et al.*, 2015).

Além dos tipos de variantes que causam alterações na sequência do DNA citadas anteriormente, as variantes podem ser classificadas com base no seu impacto clínico, ou seja, se refletem ou não a probabilidade de causar uma doença. O impacto clínico das variantes é classificado pelas diretrizes internacionais do ACMG nas cinco categorias listadas a seguir (Richards *et al.*, 2015):

i. Patogênica: é bem estabelecido que a variante em questão tenha correlação direta com o desenvolvimento da doença e é improvável que evidências adicionais alterem sua classificação. Essa classificação considera variantes identificadas como patogênicas em estudos anteriores e variantes ligadas à doença na família do indivíduo estudado;

ii. Provavelmente patogênica: nessa classificação, há uma probabilidade maior que 90% de a variante causar a doença estudada. São necessárias evidências adicionais confirmem a patogenicidade e as chances de que novas evidências possam demonstrar que tal variante não tem significado clínico não podem ser descartadas;

iii. Significado incerto: essa nomenclatura considera que ainda não existem evidências científicas suficientes que possam classificar definitivamente tal variante;

iv. Provavelmente benigna: significa mais de 90% de certeza de que uma variante não seja causadora de doença, mas a atual evidência científica é insuficiente para provar de forma conclusiva que esta variante seja benigna. Nesse caso, são necessárias evidências adicionais que confirmem a inexistência de patogenicidade e a possibilidade de que novas evidências possam demonstrar que essa variante pode contribuir para a doença são muito pequenas;

v. Benigna: é bem estabelecido que variantes incluídas nessa nomenclatura não tenham correlação direta com o desenvolvimento da doença. Além disso, é extremamente improvável que evidências adicionais alterem essa classificação.

#### *5.1.2.2 Bancos de dados genéticos*

Com o aumento dos estudos genéticos a quantidade de informações geradas aumentou exponencialmente e com isso surgiu a necessidade de tornar esses dados públicos. Atualmente, o compartilhamento dessas informações é feito através de bancos de dados genéticos que armazenam informações sobre variantes que foram identificadas em indivíduos com alguma doença ou manifestação clínica, ou até mesmo clinicamente saudáveis. Além disso, os repositórios de variantes genéticas podem compilar informações sobre sinais e sintomas do portador, frequência e interpretação das variantes e as evidências que sustentam cada interpretação. A maioria desses bancos de dados funciona de forma colaborativa, em que os usuários - geralmente provenientes de universidades, centros de

pesquisa ou laboratórios privados - compartilham seus achados (Landrum *et al.*, 2020; Gudmundsson *et al.*, 2022).

Muitas informações são necessárias para a classificação de uma variante, sua frequência em uma determinada população saudável é extremamente importante. Um exemplo de banco de dados que reúne informações de milhares de pessoas clinicamente saudáveis é o banco de dados de agregação de genoma (gnomAD) (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). Uma vez que informa sobre a frequência com que uma determinada variante é encontrada na população, esse banco constitui uma ferramenta muito importante, capaz de prever as chances de causar uma patologia. Por exemplo, se uma alteração for encontrada em milhares de indivíduos, é improvável que cause uma doença rara (Karczewski *et al.*, 2020; Gudmundsson *et al.*, 2022).

Um dos bancos de dados mais importantes, mundialmente difundido e amplamente utilizado é o ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>). Um arquivo público colaborativo, gratuito e de livre acesso, que contém relatórios das relações entre variantes e fenótipos humanos, hospedado pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e financiado por fundos internos do *National Institutes of Health* (NIH). É um banco de dados de variantes genéticas interpretadas para significância clínica ou funcional. Os dados do ClinVar referem-se aos portadores das patologias e seus familiares estudados. Esse banco de dados permite que a comunidade global interessada em doenças genéticas compartilhe informações acerca de milhares de variantes identificadas em indivíduos com diferentes quadros clínicos. Cada gerador de informação genética tem o poder de decidir se compartilha ou não suas informações no ClinVar. O processo de submissão de variantes precisa seguir uma série de regras estabelecidas pela plataforma, podendo ser um processo extremamente trabalhoso e que não gera retorno financeiro. Dessa forma, muitos geradores de informações não contribuem para esse banco de dados (Landrum *et al.*, 2014; Landrum *et al.*, 2020).

Outro banco de dados muito importante hospedado pelo NCBI é o *Single Nucleotide Polymorphism Database* (dbSNP) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Ainda que o nome do banco de dados mencione apenas uma classe de variantes (SNPs) e ela seja mais abundante, ele contém também outras classes. Essa ferramenta possui informações sobre variantes clinicamente comprovadas ou não, ou seja, não fornece informações sobre o impacto da variante, mas possui

informações importantes como frequência populacional e consequências moleculares (Sherry *et al.*, 2001).

### 5.1.2.3 Ferramentas de bioinformática

Com o advento dos bancos de dados genéticos, a implementação de formatos padrões de arquivos, como o formato FASTA e a criação de programas de análises, buscas e comparações de sequências começaram a se desenvolver. O formato FASTA é um formato baseado em texto para representar sequências de nucleotídeos ou sequências peptídicas, nas quais pares de bases ou aminoácidos são representados usando códigos de uma única letra (NCBI, 2023).

A detecção de nsSNPs causadores de doenças raras continua sendo um desafio e muitas vezes requer estudos funcionais *in vitro*. Priorizar os SNPs patogênicos mais prováveis e identificar genes chaves relacionados à obesidade é extremamente importante e vários métodos computacionais foram desenvolvidos para esse fim.

A bioinformática desempenha papel crucial na compreensão das consequências das variações genômicas e várias ferramentas computacionais foram desenvolvidas para prever se as variações são prejudiciais. Esses métodos têm diferentes abordagens baseadas em diferentes princípios, incluindo estrutura de proteínas, análise de conservação evolutiva, anotações funcionais, ambiente de sequência e propriedades físicas e bioquímicas de aminoácidos. Ferramentas como *The Sorting Intolerant from Tolerant* (SIFT) (Sim *et al.*, 2012), *Position-Specific Evolutionary Preservation* (PANTHER) (TANG; THOMAS, 2016) e *Protein Variation Effect Analyzer* (PROVEAN) (Choi *et al.*, 2012) são bancos de dados de conservação evolucionária. Por outro lado, o *Predictor of human Deleterious Single Nucleotide Polymorphisms* (PhD-SNP) (Capriotti; Calabrese; Casadio, 2006), *Polymorphism Phenotyping v2* (PolyPhen-2) (Adzhubei *et al.*, 2010), *Screening for Non-Acceptable Polymorphisms* (SNAP2) (Bromberg; Rost, 2007) e PON-P2 (Niroula; Urolagin; Vihinen, 2015) combinam dados de conservação evolutiva e outros tipos de recursos como abordagem baseada em aprendizado de máquina, enquanto ferramentas como *Have (y)Our Protein Explained* (HOPE) (Venselaar *et al.*, 2010) e Predict SNP (Bendl *et al.*, 2014) são metapreditores que fazem previsões consensuais com base nos resultados de outras ferramentas.

### 5.1.3 Variantes genéticas em diferentes ancestralidades

Os constantes avanços em estudos genéticos vêm fornecendo informações importantes e consideráveis sobre a população humana; no entanto, a maioria dos estudos se concentra principalmente em indivíduos de ascendência europeia. A frequência de uma determinada variante varia entre indivíduos de diferentes ancestralidades, entretanto, apesar da imensa quantidade de dados depositados nos diferentes bancos de dados genéticos, muitas populações ainda estão sub-representadas, principalmente populações miscigenadas. Apenas cerca de 20% dos indivíduos incluídos nos GWAS são não-europeus. Nesse contexto, populações mistas podem carregar variantes genéticas raras ou ausentes em outras populações e, portanto, não serem representadas nos bancos de dados disponíveis atualmente. Se as variantes forem patogênicas, esses bancos de dados não são capazes de avaliar efetivamente seu impacto na saúde de um indivíduo. Da mesma forma, uma variante benigna comum pode estar associada a uma doença rara em outras populações (Popejoy; Fullerton, 2016).

Os latino-americanos são modelos clássicos de efeitos de mistura em populações humanas e estão sub-representados em estudos de diversidade genômica humana. O Brasil, o maior e mais populoso país da América Latina, com quase 200 milhões de habitantes (~52% da população sul-americana e 3% da população mundial), tem uma população altamente miscigenada de africanos, europeus e nativos americanos, e é inadequadamente representado em bancos de dados genômicos publicamente disponíveis. A mistura de indivíduos de diferentes origens étnicas desempenha um papel importante na ampla variação genética, e o estudo genético da população brasileira pode fornecer um recurso essencial para a compreensão de características complexas dos seres humanos (Giolo *et al.*, 2012; Kehdy *et al.*, 2015).

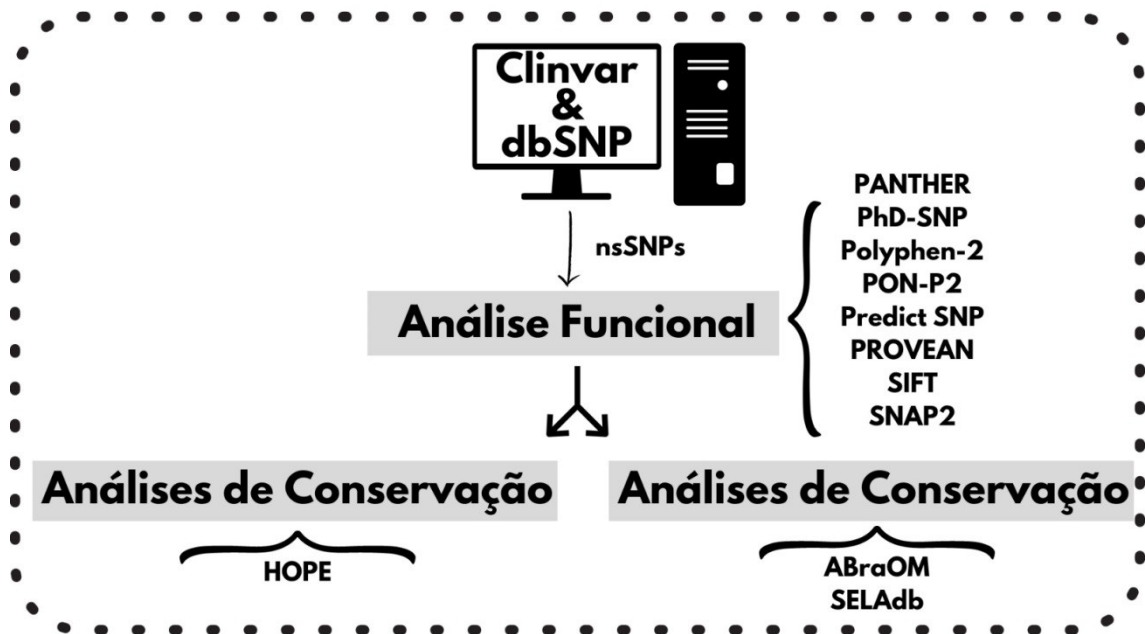
Dessa forma, uma análise de variantes envolvidas na obesidade em bases de dados genéticos mundiais e a comparação com bases de dados brasileiras podem contribuir para a identificação das fragilidades e reforçar a necessidade de mais plataformas envolvendo a população latino-americana.

## 5.2 METODOLOGIA

### 5.2.1 Curadoria de conjuntos de dados de variantes *missense*

A estratégia computacional utilizada incluiu a previsão de nsSNPs deletérios na obesidade usando várias ferramentas de bioinformática. nsSNPs de alto risco foram selecionados para análises bioquímicas e de conservação. Além disso, nsSNPs foram pesquisados em bancos de dados brasileiros. O fluxo de trabalho da Figura 12 ilustra o processo computacional.

Figura 12 - Metodologia computacional utilizada para as análises funcionais de nsSNPs.



Fonte: A autora.

O banco de dados ClinVar foi usado para selecionar os nsSNPs e avaliar a relevância clínica das variantes *missense* apresentadas, além da correlação genótipo-fenótipo. Para isso, no ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), foi utilizado o *imput* "obesity" no campo "Disease/phenotype". A busca foi realizada em junho de 2022. Depois disso, todos os nsSNPs foram pesquisados no dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) para verificar possíveis discrepâncias e confirmar as distribuições de frequência alélica. Por fim, foram selecionados apenas os nsSNP que apresentavam como principal característica clínica a obesidade e tinham significado clínico "patogênico".

### 5.2.2 Predição de nsSNPs

As ferramentas PANTHER, PhD-SNP, Polyphen-2, PON-P2, Predict SNP, PROVEAN, SIFT e SNAP2 foram usadas para confirmar a patogenicidade. O formato FASTA foi usado para consultas de programas e foi obtido no site <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>.

Cada ferramenta *in silico* utiliza parâmetros diferentes para classificar as variantes. A plataforma PANTHER (<http://www.pantherdb.org/>) usa a avaliação da conservação evolutiva de aminoácidos para prever variantes patogênicas. Considera maior probabilidade de consequências funcionais para tempos de preservação de proteínas mais longos. Para fazer isso, o PANTHER realiza um alinhamento de proteínas relacionadas evolutivamente para estimar quanto tempo um estado atual de um determinado aminoácido foi preservado em seus ancestrais (Tang; Thomas, 2016).

Já a ferramenta PhD-SNP (<https://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html>) é baseado em um classificador baseado em *Support Vector Machine*. De acordo com uma técnica de aprendizado de máquina, esse classificador treinado pode prever se um nsSNP está relacionado à doença e distinguir entre deletério e neutro (Capriotti; Calabrese; Casadio, 2006).

A plataforma Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) usa oito recursos preditivos baseados em sequência e três baseados em estrutura selecionados automaticamente por algoritmos iterativos. A maioria dessas características envolve considerações evolutivas estruturais e comparativas para prever possíveis efeitos de uma substituição de aminoácidos na estrutura e função de uma proteína. Cada substituição de aminoácidos tem uma predição qualitativa (“provavelmente prejudicial”, “potencialmente prejudicial”, “benigno” ou “desconhecido”) com uma pontuação que varia de 0,0 (tolerado) a 1,0 (prejudicial) (Adzhubei *et al.*, 2010).

Em relação à plataforma PON-P2 (<http://structure.bmc.lu.se/PON-P2/>), essa prevê a patogenicidade de substituições de aminoácidos usando uma ferramenta baseada em aprendizado de máquina treinada e testada em conjuntos de dados de referência que contemplam características de aminoácidos, anotações de ontologia de genes, conservação evolutiva e anotações de sites funcionais. Para previsão de tolerância, esta plataforma estima a confiabilidade das previsões e agrupa as

variantes em patogênicas, neutras e desconhecidas (Niroula; Urolagin; Vihinen, 2015).

A ferramenta PredictSNP (<https://loschmidt.chemi.muni.cz/predictsnp1/>) é um classificador de consenso que avalia o efeito de nsSNPs na função da proteína através da combinação de seis plataformas de predição diferentes: MAPP, nsSNP analyzer, PANTHER, PhD-SNP, PolyPhen-1, PolyPhen-2, SIFT e SNAP (Bendl *et al.*, 2014).

A plataforma PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/index.php>) prevê se uma variação de sequência de proteína afeta sua função. É uma ferramenta de previsão baseada em sequência que usa uma pontuação baseada em alinhamento que mede a mudança de uma proteína na similaridade de sequência após uma variação de aminoácidos. Prevê-se que a variante da proteína tenha um efeito “deletério” se a pontuação for igual ou inferior a um limite predefinido e um efeito “neutro” se a pontuação estiver acima do limite (Choi *et al.*, 2012).

Quanto a plataforma SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>), a mesma prevê se uma substituição de aminoácidos afeta a função da proteína com base na homologia da sequência e nas propriedades físicas dos aminoácidos. Esta ferramenta calcula a probabilidade de um aminoácido ser tolerado em uma posição específica com um índice de tolerância de 0,05. Substituições com probabilidades acima de 0,05 são consideradas toleradas e, abaixo, são preditas como intoleradas ou deletérias (Sim *et al.*, 2012).

Por fim, a ferramenta SNAP2 (<https://www.rostlab.org/services/snap/>) é um classificador treinado baseado em um dispositivo de aprendizado de máquina chamado “rede neural”, que usa principalmente informações de sequência, como o informações retiradas de um alinhamento de múltiplas sequências gerado automaticamente, além de anotações funcionais e estruturais para prever se a variação pode afetar a função da proteína (Bromberg; Rost, 2007).

### **5.2.3 Análise de bioinformática utilizando a plataforma HOPE**

A plataforma HOPE (<https://www3.cmbi.umcn.nl/hope/>), desenvolvida pelo Centro de Informática Molecular e Biomolecular da Universidade de Radboud, na Holanda, foi acessada em julho de 2022 e foi utilizada para realizar análises bioquímicas e de conservação. A HOPE coleta informações estruturais de várias



fontes, incluindo cálculos na estrutura 3D da proteína, anotações de sequência no UniProt e previsão do software Refprof. Além disso, esta ferramenta fornece informações como hidrofobicidade, conservação de resíduos de tipo selvagem e tamanho de resíduo mutante. Por fim, o HOPE combina essas informações para analisar o efeito de uma determinada mutação na estrutura da proteína (Venselaar *et al.*, 2010).

#### **5.2.4 Bases de dados brasileiras**

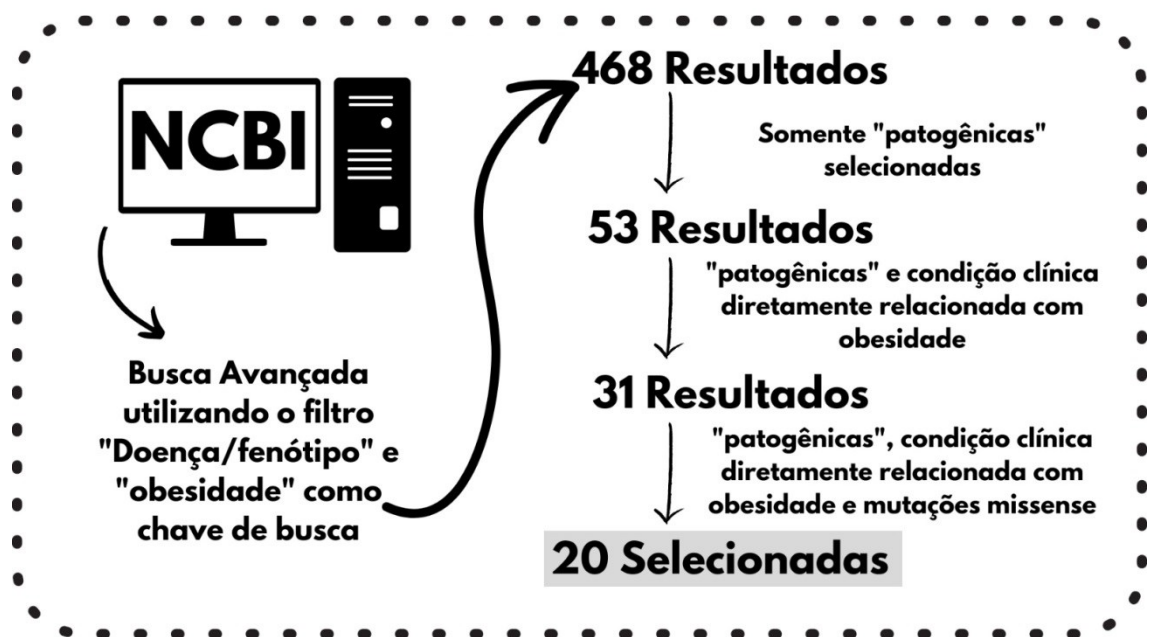
Duas plataformas foram utilizadas para avaliar as variantes encontradas na população brasileira. Ambas foram acessadas em julho de 2022. A primeira, ABraOM (Arquivo Online Brasileiro de Mutações) (<https://abraom.ib.usp.br/>), é um repositório que contém dois conjuntos de dados obtidos com sequenciamento de exoma total e genoma completo do SABE, uma amostra censitária de idosos da maior cidade do Brasil, São Paulo. O primeiro conjunto de dados compreende variantes exômicas de 609 indivíduos, e o segundo compreende variantes genômicas de 1.171 indivíduos. No entanto, há uma sobreposição de 574 indivíduos entre os dois conjuntos de dados (Naslavsky *et al.*, 2020). A outra ferramenta, SELAdb (Laboratório de Sequenciamento em Larga Escala) (<https://intranet.fm.usp.br/sela/>), compreende uma coorte final de 523 indivíduos não aparentados, incluindo pacientes ou familiares atendidos por diferentes clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Brasil (Lerario *et al.*, 2020).

## 5.3 RESULTADOS

### 5.3.1 Seleção de variantes *missense* e análise de predição

A partir da pesquisa avançada do banco de dados ClinVar usando o filtro “*Disease/phenotype*” com a palavra-chave “*obesity*”, foram recuperados 468 resultados. Esses resultados são mostrados no Apêndice B. A seleção manual de todos os nsSNPs com significado clínico “*patogênico*” (RICHARDS; AZIZ; BALE; BICK *et al.*, 2015) é apresentada no Apêndice C. As 53 mutações identificadas como patogênicas foram posteriormente refinadas, e apenas aquelas com quadro clínico diretamente relacionado à obesidade foram selecionadas, conforme mostra o Apêndice D. Além disso, um segundo refinamento foi realizado para restringir as mutações *missense*, obtendo-se assim as 20 mutações (Apêndice E). O processo de refinamento das variantes é ilustrado na Figura 13.

Figura 13 - Ilustração do processo de refinamento de dados.



Fonte: A autora.

Finalmente, foram selecionadas 20 variantes em sete genes. Entre os 20 nsSNPs avaliados em oito ferramentas de predição (PANTHER, PhD-SNP, Polyphen-2, PON-P2, Predict SNP, PROVEAN, SIFT e SNAP2), apenas quatro (nsSNP H90P do gene DYRK1B, N960K do gene LEPR, V166I do gene MC4R e A195S do gene NR0B2) apresentaram resultados desconhecidos ou não deletérios

na maioria das ferramentas e foram excluídos das análises posteriores. Esses resultados são mostrados no Quadro 1.

Quadro 1 - Resultados de predição de nsSNPs por oito softwares de predição.

Gene	AA	Polyphen-2	PON-P2	SIFT	PhD-SNP	PROVEAN	PANTHER	SNAP2	Predict SNP
BDNF	C186Y	D	D	D	D	D	D	D	D
DYRK1B	R102C	D	U	N	D	D	U	D	N
	H90P	N	U	N	D	N	U	D	N
GHRL	L72M	D	D	N	N	N	D	D	D
	R51Q	D	D	D	N	D	D	D	D
LEPR	N960K	N	N	D	N	N	N	N	N
MC4R	I316S	D	D	D	D	D	N	D	D
	R305W	D	D	D	D	D	D	D	D
	P299H	D	D	D	D	D	D	D	D
	F280L	D	D	N	N	D	N	D	D
	C271Y	D	D	D	D	D	D	D	D
	S180P	D	D	N	D	D	N	D	D
	V166I	D	U	D	N	N	N	N	N
	R165Q	D	D	D	D	D	D	D	D
	T150I	D	D	D	D	D	D	D	D
	S136F	D	D	D	D	D	D	D	D
	I69R	D	D	D	D	D	D	D	D
	E61K	D	D	D	D	D	D	D	D
NR0B2	A195S	D	U	N	N	N	D	D	N
UCP3	R70W	D	D	D	D	D	U	D	D

AA: Posição da substituição de aminoácidos, D: Deletério, N: Não deletério, U: Desconhecido.

### 5.3.2 Análise bioquímica e de conservação

Em relação aos 16 nsSNPs previstos como deletérios, a ferramenta HOPE forneceu informações sobre o tamanho do resíduo mutante, resíduo mais hidrofóbico, conservação do resíduo tipo selvagem e possibilidade de causar danos, além de comentários sobre as consequências da mutação de acordo com sua localização. Cada variante foi executada individualmente no HOPE para obter um relatório detalhado sobre as alterações estruturais que a alteração do aminoácido pode causar na proteína. O relatório inclui potenciais ligações de hidrogênio/pontes salinas formadas ou perdidas, alterações ou ganho de cargas, possíveis problemas de dobramento, função, hidrofobicidade e diferenças de tamanho em comparação com a versão selvagem da proteína.

O gene BDNF, que codifica a proteína fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), é expresso no cérebro, e mutações nesse gene e/ou seu receptor estão associadas à obesidade em modelos humanos e animais (Sandrini *et al.*, 2018). A variante C186Y está localizada em um domínio importante para a ligação de outras moléculas e pode atrapalhar a função. Resultados semelhantes foram encontrados para a variante R102C no gene DYRK1B, que codifica a proteína serina-treonina quinase direcionada à arginina, uma enzima gliconeogênica chave glicose-6-fosfatase. Foi relatado que variantes associadas a esse gene estão associadas a fenótipos da síndrome metabólica humana (Keramati *et al.*, 2014).

O gene GHRL, que codifica o prepropeptídeo grelina e obestatina, foi relatado em duas variantes, L72M e R51Q. Embora os resultados tenham demonstrado que ambas as variantes poderiam promover uma leve alteração em um domínio para ligação, as variantes foram classificadas como possivelmente aceitáveis.

Em relação ao gene MC4R, que codifica o MC4R, um dos genes relacionados à obesidade mais estudados, foram selecionadas 11 variantes, das quais sete foram classificadas como possivelmente prejudiciais. As variantes R305W, P299H, F280L, C271Y, S136F e E61K estavam em regiões muito conservadas do gene, geralmente associadas a locais essenciais para a função da proteína (Pérez-Palma *et al.*, 2020). As variantes R305W e P299H

produzem resíduos próximos a uma posição altamente conservada e introduzem um resíduo hidrofóbico na posição 305 e um resíduo menos rígido na posição 299, respectivamente. Ambas as variantes podem resultar na perda de pontes de hidrogênio e perturbação do dobramento do MC4R. Os resultados da variante R165Q demonstraram uma diferença de carga entre o tipo selvagem e o aminoácido mutante que pode causar perda de interações com outras moléculas ou resíduos. A variante E61K se localiza em um local 100% conservado, com um resíduo de mutação com carga oposta ao tipo selvagem levando a repulsão com outros resíduos na proteína.

Finalmente, para UCP3, o gene codifica duas formas de transcrição, um mensageiro (UCP3L) e uma isoforma curta (UCP3S). A proteína UCP3 é um transportador transmembranar mitocondrial específico do músculo e algumas variantes foram associadas à obesidade infantil (Musa *et al.*, 2012). A única variante no gene UCP3 neste estudo foi R70W que gerou um resíduo maior que pode atrapalhar a região de repetição e conseqüentemente qualquer função que esta repetição possa ter. Esses resultados são exibidos no Quadro 2.

Quadro 2 - Análise da plataforma HOPE.

Gene	AA	Tamanho do resíduo mutante	Resíduo mais hidrofóbico	Conservação de resíduos do tipo selvagem	Danos	Comentários
BDNF	C186Y	Maior	Selvagem	-	-	O resíduo mutado está localizado em um domínio que é importante para a ligação de outras moléculas. A mutação do resíduo pode perturbar esta função.
DYRK1B	R102C	Menor	Mutante	Não conservado	Possivelmente prejudicial	O resíduo mutado está localizado em um domínio que é importante para a ligação de outras moléculas. A mutação do resíduo pode perturbar esta função.
GHRL	L72M	Maior	-	Muito conservado	A variante pode ocorrer sem danos	O resíduo mutado está localizado em um domínio que é importante para a ligação de outras moléculas. A mutação do resíduo pode perturbar esta função.
	R51Q	Menor	-	Muito conservado	A variante pode ocorrer sem danos	O resíduo mutado está localizado em um domínio que é importante para a ligação de outras moléculas. A mutação do resíduo pode perturbar esta função. A carga do resíduo do tipo selvagem é POSITIVA e a carga do resíduo mutante é NEUTRA.
MC4R	I316S	Menor	Selvagem	Não conservado	Possivelmente prejudicial	-
	R305W	Maior	Mutante	Muito conservado	Provavelmente prejudicial	O resíduo mutante está localizado perto de uma posição altamente conservada. A variante introduz um resíduo mais hidrofóbico nesta posição. Isso pode resultar na perda de ligações de hidrogênio e/ou perturbar o dobramento correto.
	P299H	Maior	Selvagem	100% conservado	Provavelmente prejudicial	O resíduo mutante está localizado perto de uma posição altamente conservada. As prolínas são conhecidas por terem uma estrutura muito rígida, às

						vezes forçando a espinha dorsal a uma conformação específica. Possivelmente, a mutação transforma uma prolina com tal função em outro resíduo, perturbando assim a estrutura local.
	F280L	Menor	-	Não conservado	Possivelmente prejudicial	-
	C271Y	Maior	Selvagem	100% conservado	Provavelmente prejudicial	-
	S180P	Maior	Mutante	Muito conservado	Possivelmente aceitável	-
	R165Q	Menor	-	Muito conservado	A variante pode ocorrer sem danos	Há uma diferença de carga entre o aminoácido selvagem e o mutante. A carga do resíduo de tipo selvagem será perdida, o que pode causar uma perda de interações com outras moléculas ou resíduos.
	T150I	Maior	Mutante	Muito conservado	Possivelmente aceitável	-
	S136F	Maior	Mutante	100% conservado	Provavelmente prejudicial	-
	I69R	Maior	Selvagem	Muito conservado	Possivelmente aceitável	-
	E61K	Maior	-	100% conservado	Provavelmente prejudicial	A mutação introduz um resíduo com carga oposta ao tipo selvagem. Isso pode causar repulsão com outros resíduos na proteína ou ligantes.
UCP3	R70W	Maior	Mutante	Muito conservado	Possivelmente aceitável	A mutação está localizada dentro de um trecho de resíduos que se repete na proteína, essa repetição é denominada Solcar 1. A mutação em outro resíduo pode atrapalhar essa repetição e conseqüentemente qualquer função que essa repetição possa ter.

AA: Posição de substituição de aminoácidos.



### 5.3.3 Análise de bancos de dados brasileiros

Quanto aos 16 nsSNPs previstos como deletérios, todos foram pesquisados nas bases de dados brasileiras ABraOM e SELAdb. Quatro mutações retornaram registros na plataforma SELAdb e três na ferramenta ABraOM. No SELAdb foram encontrados registros dos nsSNPs L72M e R51Q do gene GHRL, nsSNP R70W do gene UCP3 e nsSNP T150I do gene MC4R. Destes, apenas o nsSNP R70W do gene UCP3 não foi encontrado na ferramenta ABraOM. Essas quatro variantes foram amplamente pesquisadas na literatura. Os resultados estão resumidos nos Quadros 3, 4, 5 e 6.

Quadro 3 - Estudos envolvendo a variante R70W do gene UCP3 (rs17848368).

<b>Autor/Ano</b>	<b>Nº de participantes</b>	<b>Principais achados sobre a variante R70W</b>
Brown <i>et al.</i> , 1999a	382 indivíduos de ambos os sexos (63 afro-americanos, 182 índios Pima, 137 caucasianos).	A variante R70W foi identificada em um adolescente probando (15 anos) de ascendência chinesa com obesidade grave (IMC 51 kg/m <sup>2</sup> ) e DM2. O pai do portador também era heterozigoto para a variante, tinha DM2 e IMC de 24 kg/m <sup>2</sup> . Nenhuma mutação em UCP3 foi identificada na mãe.
Brown <i>et al.</i> , 1999b	<i>In-vitro</i>	Quando expressa em levedura, a variante R70W anulou a atividade de UCP3. Ao contrário da proteína do tipo selvagem, a proteína mutante não teve efeito deletério no crescimento da levedura, sugerindo que a mutação pode alterar um domínio funcional crítico na proteína. A proteína mutante perde sua capacidade de entrar na membrana mitocondrial ou é inserida na membrana mitocondrial, além disso, perde sua capacidade de alterar o potencial de membrana.

Quadro 4 - Estudos envolvendo a variante T150I do gene MC4R (rs766665118).

<b>Autor/Ano</b>	<b>Nº de participantes</b>	<b>Principais achados sobre a variante T150I</b>
Vaisse <i>et al.</i> , 2000	209 indivíduos não aparentados com obesidade grave.	Foi o primeiro estudo a descrever e caracterizar a variante. Neste estudo, a variante causou diminuição na ativação do receptor devido a redução na ligação.

Govaerts <i>et al.</i> , 2005	<i>In-vitro</i>	A variante modificou microdomínios estruturais cuja sequência e função são conservadas em toda a superfamília de receptores acoplados a proteínas G.
Lubrano-Berthelier <i>et al.</i> , 2006	769 adultos com IMC de pelo menos 35 kg/m <sup>2</sup> e 444 indivíduos controles.	Dois pacientes não aparentados eram portadores da variante. Na avaliação das características funcionais das mutações detectadas, esta mutação modificou não só a capacidade do receptor ser ativado por seu ligante, mas também sua atividade constitutiva.
Xiang <i>et al.</i> , 2006	<i>In-vitro</i>	Um grupo de 11 receptores polimórficos, incluindo T150I, mostrou potência diminuída para alguns agonistas de melanocortina endógenos examinados.
Xiang <i>et al.</i> , 2007	<i>In-vitro</i>	Análises <i>in vitro</i> descreveram função reduzida para a mutação Thr150Ile.
Santos <i>et al.</i> , 2008	32 mulheres chilenas com obesidade não relacionadas.	A variante foi encontrada em status heterozigoto e a avaliação dos parentes dessa portadora identificou dois portadores adicionais em uma família de três gerações. Os fenótipos de obesidade, comportamento alimentar e composição corporal nesta família revelaram uma possível relação desta variante com obesidade.
Stutzmann <i>et al.</i> , 2008	2.257 indivíduos com obesidade e 2.677 controles.	A variante T150I foi encontrada em dois indivíduos com obesidade e resultou em perda parcial da função.
Wangenstein <i>et al.</i> , 2009	1.027 pacientes com obesidade.	A variante T150I foi identificada em um paciente pediátrico e cinco adultos.
Albuquerque <i>et al.</i> , 2014	202 pacientes não aparentados com obesidade grave desde a infância.	O fenótipo mais avançado na amostra foi uma mulher de 56 anos com obesidade grave (IMC 45,9 kg/m <sup>2</sup> ) que ganhou peso progressivamente e estava acima do peso desde a infância. Ela havia sido diagnosticada com compulsão alimentar e ansiedade, além de ter história de hipertensão arterial e hipercolesterolemia.
Vega <i>et al.</i> , 2016	344 adultos com ampla variação de IMC (30,3 ± 6,3 kg/m <sup>2</sup> ).	Foi identificado um caso de obesidade monogênica em portadora da variante T150I, sem alterações aparentes nos escores de comportamento alimentar.
Serra-Juhé <i>et al.</i> , 2020	463 indivíduos com obesidade grave e 480 controles.	A mutação T150I foi identificada em um homem com obesidade grave de início precoce.

Quadro 5 - Estudos envolvendo a variante R51Q do gene GHRL (rs34911341).

Autor/Ano	Nº de participantes	Principais achados sobre a variante R51Q
Ukkola <i>et al.</i> , 2001	96 mulheres com obesidade e 96 controles.	A variante foi encontrada em seis (todos heterozigotos) mulheres com obesidade (6,3%), mas não entre os controles.
Hinney <i>et al.</i> , 2002	215 crianças e adolescentes com obesidade grave e 93 controles.	A variante foi encontrada com frequência semelhantes nos dois grupos, não podendo confirmar a associação com obesidade.
Krzyzanowska-Swiniarska <i>et al.</i> , 2005	Artigo de revisão	Embora nenhuma relação direta entre a variante e o fenótipo da obesidade tenha sido encontrada, foi demonstrado que os portadores da variante diminuíram significativamente as concentrações plasmáticas de grelina e apresentaram maior prevalência de diabetes DM2 e hipertensão.
Berthold <i>et al.</i> , 2010	1.143 hipertensos e 1.489 controles.	A variante foi associada à hipertensão.
Pulkkinen <i>et al.</i> , 2010	Artigo de revisão	Arg51Gln, que está localizado no exon 3 dentro do último códon da proteína grelina madura e interrompe o local de reconhecimento da endoprotease, levando à clivagem proteolítica dos 66 aminoácidos carboxi-terminais para produzir grelina madura.
dos Santos <i>et al.</i> , 2010	Gestantes não diabéticas (n=600) ou com diabetes mellitus gestacional (n=176).	A variante foi associada à proteção contra o desenvolvimento de diabetes gestacional na população estudada.
Dantas <i>et al.</i> , 2011	144 doadores de sangue euro-brasileiros com obesidade e 153 controles.	Não foram encontradas diferenças significativas por meio de comparações entre indivíduos com obesidade e controles, de genótipos e frequências alélicas em Arg51Gln, ou IMC médio.
Leggio <i>et al.</i> , 2012	770 dependentes de álcool e 68 controles.	As frequências do Arg51Gln foram de 0% em controles saudáveis e em dependentes de álcool.
Futagami <i>et al.</i> , 2013	74 pacientes negativos para <i>Helicobacter pylori</i> com sintomas típicos de dispepsia	Nos pacientes com dispepsia funcional negativa para <i>H. pylori</i> , não houve relações significativas entre os sintomas clínicos e o genótipo Arg51Gln.

	funcional.	
Sharma <i>et al.</i> , 2013	257 pacientes em hemodiálise de manutenção e 200 controles saudáveis normais.	Os genótipos Gln51Gln e Met72Met da grelina foram associados a uma suscetibilidade 3,4 e 2,5 vezes maior à síndrome inflamatória da desnutrição em pacientes com doença renal terminal. Na análise de docking, observou-se que maior energia de ligação ao receptor estava associada à forma mutante da grelina (Gln51).
Spencer <i>et al.</i> , 2013	Artigo de revisão	A variante foi associada a um risco aumentado de hipertensão e a baixas concentrações de grelina.
Suchankova <i>et al.</i> , 2013	104 indivíduos suecos dependentes de anfetaminas e 310 controles.	Não houve diferenças sobre as frequências do SNP rs34911341 em controles e em dependentes de anfetaminas.
Mora <i>et al.</i> , 2015	824 indivíduos (413 homens/411 mulheres).	A variante do gene da grelina R51Q (rs34911341) não foi associada a certos componentes da síndrome metabólica.
Laugsand <i>et al.</i> , 2015	Pacientes com câncer recebendo opioides.	O SNP rs34911341 não foi associado à constipação entre pacientes com câncer tratados com opioides.
Yamawaki <i>et al.</i> , 2015	74 pacientes apresentando sintomas típicos de dispepsia funcional e 64 voluntários saudáveis.	Não houve diferença significativa entre a distribuição de Arg51Gln em pacientes com dispepsia funcional e em voluntários saudáveis.
Zhang <i>et al.</i> , 2015	176 pacientes com hepatite B crônica, 106 com cirrose hepática relacionada ao vírus da hepatite B, 151 com carcinoma hepatocelular relacionado ao vírus da hepatite B e 167 controles saudáveis.	Não foi encontrada correlação entre o polimorfismo GHRL rs34911341 e um risco aumentado de cirrose hepática.
Russo <i>et al.</i> , 2017	31 pacientes com doença celíaca, 28	O gene GHRL pode desempenhar um papel na sustentação do componente inflamatório

	pacientes com síndrome do intestino irritável e 19 controles.	não apenas na doença celíaca, mas também na síndrome do intestino irritável, embora essas doenças sejam muito diferentes em sua etiologia.
John <i>et al.</i> , 2018	Artigo de revisão	A variante foi associada à suscetibilidade ao complexo distúrbio da obesidade.
Pektas <i>et al.</i> , 2020	35 homens jovens e 33 controles pareados por idade e IMC.	As frequências do genótipo rs34911341 foram semelhantes entre os grupos e não indicaram risco aumentado de desenvolver acne vulgar.
Kalli <i>et al.</i> , 2021	142 pacientes e 209 controles.	Para a síndrome do intestino irritável, não foram encontradas diferenças significativas na distribuição do genótipo para os polimorfismos rs34911341 e rs2075356 entre pacientes e controles.

Quadro 6 - Estudos envolvendo a variante L72M do gene GHRL (rs696217).

<b>Autor/Ano</b>	<b>Nº de participantes</b>	<b>Principais achados sobre a variante L72M</b>
Ukkola <i>et al.</i> , 2001	96 mulheres com obesidade e 96 mulheres controle.	A variante tendeu a ser associada com menor idade de início de obesidade.
Hinney <i>et al.</i> , 2002	215 crianças e adolescentes alemães com obesidade grave (1) e 93 com peso normal (2).	A variante foi encontrada em frequências semelhantes nos grupos de estudo 1 e 2, não sendo possível confirmar a associação com obesidade.
Korbonits <i>et al.</i> , 2002	70 crianças com obesidade	L72M foi identificada em 14 indivíduos e foi significativamente associada a crianças com IMC mais alto e com menor secreção de insulina durante teste oral de tolerância à glicose, embora nenhuma diferença nas concentrações de glicose tenha sido observada.
Ukkola & Kesäniemi, 2003	258 pacientes com DM2 e 522 controles.	Não foi relacionada à doença cardiovascular em pacientes com DM2, mas foi associada as concentrações de creatinina e Lp(a). O mecanismo pode estar associado a uma possível alteração no produto da grelina e seu efeito somatotrópico.
Jo <i>et al.</i> , 2005	222 crianças portadoras de obesidade.	As frequências da variante foram de 29,3% nos portadores de obesidade, 32,3% nos indivíduos com sobrepeso e 32,5% em magros. Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre crianças com obesidade

		portadoras e não portadoras com relação ao IMC, gordura corporal total, TG séricos, colesterol total ou colesterol LDL.
Krzyzanowska-Swiniarska <i>et al.</i> , 2005	Artigo de revisão	Met72 está associada a concentrações séricas de IGF-1 mais elevadas e parece ser um fator protetor contra o acúmulo de gordura e complicações cardiovasculares da obesidade.
Miyasaka <i>et al.</i> , 2006	228 pacientes japoneses (96 anorexia nervosa, 116 bulimia nervosa e 16 transtornos alimentares não especificados) e 284 indivíduos controles.	Nenhum indivíduo com este polimorfismo da grelina (Leu72Met) foi detectado na população japonesa estudada.
Steinle <i>et al.</i> , 2005	856 amostras de participantes adultos do <i>Amish Family Diabetes Study</i> .	A variante foi associada ao aumento da prevalência de síndrome metabólica, maior glicemia de jejum, menor lipoproteína de alta densidade e TG mais elevados.
Ando <i>et al.</i> , 2006	336 pacientes, 131 com anorexia nervosa, 97 com compulsão alimentar/purgativa de anorexia nervosa, 108 com bulimia nervosa e 300 indivíduos controle.	Este estudo sugere que Leu72Met esteja associado à suscetibilidade á bulimia nervosa.
Lee <i>et al.</i> , 2006	138 pacientes com nefropatia diabética divididos em dois grupos, um com função renal normal e outro com disfunção renal.	A frequência de Leu72Met foi significativamente menor em pacientes com disfunção renal. Os portadores de 72Met tinham concentrações de colesterol total mais baixas do que os não portadores.
Kim <i>et al.</i> , 2006	206 indivíduos com DM2.	A variante não foi associada ao DM2, mas foi associada com as concentrações de creatinina. Esses dados sugerem que o portador de Met72 pode ser um marcador previsível para nefropatia diabética ou

		insuficiência renal no DM2.
Kuzuya <i>et al.</i> , 2006	2.238 japoneses de meia-idade e idosos (idade: 40-79 anos).	Esses resultados do estudo sugerem que o alelo 72Met do gene preprorelina é um fator que contribui para a mudança de peso na meia-idade em homens.
Monteleone <i>et al.</i> , 2006	292 mulheres caucasianas (114 com bulimia nervosa, 59 com anorexia nervosa e 119 controles saudáveis).	Esses resultados sugerem que as variantes Arg51Gln e Leu72Met do gene da grelina não contribuem para a suscetibilidade genética à bulimia nervosa e à anorexia nervosa.
Dardennes <i>et al.</i> , 2007	114 probandos com anorexia nervosa e seus pais	Um desequilíbrio de transmissão foi observado para o SNP Leu72Met do gene preprorelina e para o SNP Ala67Thr do gene AgRP. Esses dois polimorfismos foram transmitidos para os participantes com compulsão/purgação.
Gueorguiev <i>et al.</i> , 2007	573 famílias analisadas anteriormente para suscetibilidade ao DM2 foram analisadas para características quantitativas que influenciam a estatura.	Nenhuma associação significativa com estatura foi observada para qualquer SNP.
Doecke <i>et al.</i> , 2008	260 casos de adenocarcinoma de esôfago, 301 casos de junção esofagogástrica, 213 casos de carcinomas de células escamosas de esôfago e 1.352 controles.	O polimorfismo Leu72Met não foi associado a casos de adenocarcinoma de esôfago, junção esofagogástrica e carcinoma espinocelular de esôfago.
Kilpeläinen <i>et al.</i> , 2008	487 indivíduos com sobrepeso e intolerância à glicose foram acompanhados por cerca de 4 anos.	A variante modificou o efeito da atividade física moderada a vigorosa nas mudanças de peso e circunferência da cintura.
Tang <i>et al.</i> , 2008	317 pacientes com	A variante não foi associado à doença

	doença arterial coronariana e 323 controles.	arterial coronariana na população chinesa, no entanto, foi associada ao IMC desses pacientes.
Berthold <i>et al.</i> , 2009	420 indivíduos caucasianos com DM2 e 430 controles.	Leu72Met foi associado a risco diminuído de DM2. Não houve associação entre a variante e a doença aterosclerótica ou as concentrações de grelina.
Szczepankiewicz <i>et al.</i> , 2009	129 pacientes pediátricos com asma e 114 crianças saudáveis do grupo controle variando de 6 a 18 anos de idade.	Nenhuma associação com asma foi observada para o polimorfismo Met72Leu do gene da grelina. Na análise do IMC estratificado por genótipo, não foi encontrada associação desse polimorfismo com valores de IMC maiores em pacientes asmáticos.
Takezawa <i>et al.</i> , 2009	235 indivíduos (IMC > 28,3 kg/m <sup>2</sup> ) submetidos a check-up médico periódico.	Homozigotos menores para Leu72Met reduziram as concentrações de leptina e colesterol e aumentaram a adiposidade visceral.
Berthold <i>et al.</i> , 2010	1.143 hipertensos e 1.489 controles.	rs696217 não foi associado com hipertensão e doença aterosclerótica.
Campa <i>et al.</i> , 2010	680 casos de câncer colorretal e 593 controles.	rs696217 não foi associado ao risco de câncer colorretal.
Landgren <i>et al.</i> , 2010	Mulheres com dependência grave de álcool (n = 113) e mulheres com baixo consumo de álcool (n = 212).	Os genes que codificam o sistema de sinalização da grelina não puderam ser considerados como os principais genes de suscetibilidade para a dependência de álcool em mulheres.
Pulkkinen <i>et al.</i> , 2010	Artigo de revisão	O alelo Met72 do GHRL tem sido associado a idade mais precoce de início da obesidade e IMC mais alto, mas resultados negativos também foram relatados.
Dantas <i>et al.</i> , 2011	144 doadores de sangue euro-brasileiros com obesidade e 153 controles.	Associação do SNP 72M com maior atividade de butirilcolinesterase em indivíduos com obesidade aponta para um mecanismo regulatório, indicando assim a influência do gene GHRL na expressão de butirilcolinesterase e seu possível papel no processo de aproveitamento da gordura.
Wu <i>et al.</i> , 2011	335 pacientes com adenocarcinoma de esôfago.	A análise de regressão logística indicou que o rs696217 de GHRL foi significativamente associado ao aparecimento precoce de adenocarcinoma esofágico.
Chokkalingam <i>et</i>	377 casos de	Nenhuma associação foi observada para os



<i>al.</i> , 2012	leucemia linfoblástica aguda na infância e 448 controles.	genes estudados envolvidos na regulação do tamanho corporal, incluindo rs696217.
Leggio <i>et al.</i> , 2012	70 indivíduos dependentes de álcool e 68 controles saudáveis.	Embora tenha havido maior frequência do polimorfismo do gene da grelina Leu72Met em dependentes de álcool, a distribuição entre controles saudáveis e dependentes de álcool não foi estatisticamente significativa.
Liu <i>et al.</i> , 2012	877 pacientes com DM2 e 864 controles.	O polimorfismo Leu72Met do gene da pré-progrelina não foi associado ao DM2 na população chinesa.
Yang <i>et al.</i> , 2012	634 pacientes com esquizofrenia e 606 controles.	O SNP do gene Leu72Met GHRL não foi associado à esquizofrenia nesta população chinesa.
Futagami <i>et al.</i> , 2013	74 pacientes negativos para <i>Helicobacter pylori</i> com sintomas típicos de dispepsia funcional.	O Leu72Met está significativamente associado aos níveis de grelina acilada e à sensação de fome nesses pacientes.
Sharma <i>et al.</i> , 2013	257 pacientes em hemodiálise de manutenção e 200 controles saudáveis normais.	Os genótipos Gln51Gln e Met72Met da grelina foram associados a uma suscetibilidade 3,4 e 2,5 vezes maior à síndrome inflamatória da desnutrição em pacientes com doença renal terminal.
Suchankova <i>et al.</i> , 2013	104 indivíduos suecos dependentes de anfetaminas e 310 controles da população em geral.	Não há diferenças nas frequências do SNP rs696217 em controles e dependentes de anfetaminas.
Takezawa <i>et al.</i> , 2013	117 mulheres japonesas portadoras de obesidade.	Os homozigotos menores para Leu72Met apresentaram níveis mais baixos de ingestão de alimentos do que os homozigotos ou heterozigotos principais e tiveram uma tendência a não preferir doces. Homozigotos menores não preferiam gordura ou proteína e aparentemente tinham pouco apetite, embora estivessem predispostos à obesidade.
Zhuang <i>et al.</i> , 2013	757 indivíduos (466 pacientes	Os resultados sugerem que a variante pode ajudar a manter a função renal normal e

	com DM2 e 291 indivíduos controle não diabéticos).	proteger contra o desenvolvimento de DM2 no controle não diabético e pode proteger contra o desenvolvimento de nefropatia diabética em pacientes com DM2.
Mora <i>et al.</i> , 2014	280 indivíduos (137 homens/143 mulheres, idade $77.03 \pm 5.92$ ).	A variante parece influenciar o miniexame do estado mental em idosos.
Pabalan <i>et al.</i> , 2014	Meta-análise.	Este estudo sugere que o polimorfismo do gene da grelina rs696217 (GHRL) pode proteger os portadores contra o câncer de mama.
Saliba <i>et al.</i> , 2014	Intervenção de perda de peso dietética em mulheres adultas com obesidade (n = 109).	A intervenção não resultou em diferença estatisticamente significativa na perda de peso entre portadores e não portadores do polimorfismo.
Ghalandari <i>et al.</i> , 2015	Artigo de revisão.	O estudo sugere que a associação entre GHRL/GHSR com sobrepeso/obesidade e os distúrbios metabólicos relacionados é inconclusiva.
Mora <i>et al.</i> , 2015	824 indivíduos (413 homens/411 mulheres, idade $77.31 \pm 5.04$ ).	O genótipo C/A-A/A de M72L foi associado com risco aumentado de obesidade central.
Moniuszko <i>et al.</i> , 2015	145 pacientes com doença de Graves, 87 com tireoidite de Hashimoto e 161 voluntários saudáveis.	A frequência de rs696217 não diferiu entre os grupos. Houve relação significativa entre o polimorfismo e as concentrações de anticorpos anti-TSHR nos grupos doença de Graves/tireoidite de Hashimoto; entre o polimorfismo e as concentrações de anticorpos anti-TG no grupo com doença de Graves e entre o polimorfismo e a concentração de FT4.
Su <i>et al.</i> , 2015	53 voluntários saudáveis receberam dieta pobre em carboidratos por 7 dias, seguida por uma dieta rica em carboidratos por 6 dias.	Esses resultados sugerem que o polimorfismo Leu72Met pode estar associado à diminuição do IMC induzida pela dieta rica em carboidratos em adolescentes do sexo masculino e feminino.
Yamawaki <i>et al.</i> , 2015	74 pacientes com sintomas de	O polimorfismo de nucleotídeo único Leu72Met foi significativamente associado à

	dispepsia funcional e 64 voluntários saudáveis.	fase inicial do esvaziamento gástrico em pacientes com dispepsia funcional.
Zhang <i>et al.</i> , 2015	176 pacientes com hepatite B crônica, 106 pacientes com cirrose hepática relacionada ao vírus da hepatite B, 151 pacientes com carcinoma hepatocelular relacionado ao vírus da hepatite B e 167 controles saudáveis.	Não foi encontrada correlação entre o polimorfismo GHRL rs696217 e um risco aumentado de cirrose hepática.
Mahmoudi <i>et al.</i> , 2016	750 indivíduos, incluindo 438 controles e 312 pacientes com câncer colorretal.	Não foram observadas diferenças significativas para variantes do gene GHRL (rs696217) entre os casos e controles.
Ryu <i>et al.</i> , 2016	Grupos independentes de 84 e 46 pacientes com esquizofrenia.	rs696217 em GHRL mostrou evidências sugestivas de associação não apenas com ganho de peso, mas também com alteração do apetite.
Sever <i>et al.</i> , 2016	Meta-análise.	A variante não foi relacionada com a incidência de câncer de esôfago.
Suchankova <i>et al.</i> , 2016	n = 4161.	O SNP rs696217 não foi associado a pontuações mais altas no teste de identificação de transtornos por uso de álcool e tabagismo.
Joatar <i>et al.</i> , 2017	208 indivíduos sauditas com (n=107) e sem (n=101) DM2.	Leu72Met não foi associado com DM2, resistência à insulina ou concentrações de grelina.
Krishnan <i>et al.</i> , 2017	643 (masculino: 338; feminino: 305) crianças europeias.	Foram encontradas evidências de interações da variante com o IMC, mas não com o percentual de gordura corporal.
Russo <i>et al.</i> , 2017	31 pacientes com doença celíaca, 28 pacientes com síndrome do intestino irritável e 19 controles saudáveis.	Diferenças significativas foram encontradas no polimorfismo Leu72Met entre os grupos, com a redução do genótipo GT e do alelo T em pacientes com doença celíaca e síndrome do intestino irritável em comparação com controles saudáveis.

Su <i>et al.</i> , 2017	709 voluntários expostos a um terremoto.	Os resultados sugerem que a variante pode estar associada à reabilitação da depressão em adolescentes chineses do sexo masculino após o desastre natural.
Suchankova <i>et al.</i> , 2017	Indivíduos que tiveram transtornos por uso de álcool no passado ou atual (n = 816) e controles (n = 311).	Este estudo sugere um papel potencial do polimorfismo Leu72Met pré-prorelina em transtornos relacionados ao uso de álcool e comportamentos e efeitos relacionados ao álcool.
Tziastoudi <i>et al.</i> , 2017	Meta-análise.	A variante rs696217 no gene GHRL foi associada a um risco aumentado de nefropatia diabética.
Vitolo <i>et al.</i> , 2017	Cem indivíduos com obesidade.	Indivíduos portadores do alelo rs696217 T abrangeram uma redução significativamente maior no IMC 52 semanas após a cirurgia bariátrica.
You <i>et al.</i> , 2017	3.780 chineses; 1.813 casos de síndrome metabólica e 1.967 controles.	O rs696217 está associado à circunferência do quadril e glicemia de jejum, mas não confere risco de síndrome metabólica nesta população de estudo.
Huang <i>et al.</i> , 2018	Meta-análise.	Esses resultados demonstram que o polimorfismo Leu72Met do gene da grelina pode ser protetor contra o DM2 em caucasianos, enquanto predispõe ao DM2 em asiáticos.
Imaizumi <i>et al.</i> , 2018	5112 trabalhadores do sexo masculino.	O alelo principal de rs696217 aumentou significativamente o IMC e foi associado à obesidade.
Zaharan <i>et al.</i> , 2018	n = 1151.	Os autores não observaram associação significativa entre a variante e quaisquer marcadores de adiposidade (índices de massa corporal, relação cintura-quadril e percentual de gordura corporal).
Akdeniz <i>et al.</i> , 2019	Seis pacientes com alto risco de retinoblastoma.	O rs696217 foi encontrado em um dos participantes, mas não foi considerado significativo.
Bomberg <i>et al.</i> , 2019	Artigo de revisão.	A variante foi associada a uma melhor resposta à perda de peso.
da Fonseca <i>et al.</i> , 2019	298 indivíduos com obesidade grave e 192 controles.	Nenhuma associação do polimorfismo rs696217 do GHRL com a obesidade foi observada neste estudo.

Li <i>et al.</i> , 2019	1134 sobreviventes de um terremoto chinês.	Um efeito de interação significativo entre GHRL rs696217 e HCRTR1 rs2271933 foi encontrado para prever a pontuação total da lista de verificação de transtorno de estresse pós-traumático.
Soleyman-Jahi <i>et al.</i> , 2019	Artigo de revisão.	Uma associação positiva modesta entre rs696217 e câncer de adenocarcinoma esofágico foi relatada em casos com IMC < 25 kg/m <sup>2</sup> .
Pektas <i>et al.</i> , 2020	35 pacientes pós-adolescentes do sexo masculino e 33 controles pareados por idade e IMC.	As frequências do genótipo rs696217 foram semelhantes entre os grupos e não indicaram risco aumentado de desenvolver acne vulgar.
Rivera-León <i>et al.</i> , 2020	284 indivíduos (159 com DM2 e 125 indivíduos controle).	O alelo GHRL 72Met diminui a suscetibilidade para o desenvolvimento de DM2.
Kalli <i>et al.</i> , 2021	142 pacientes e 209 controles.	Os genótipos GG e GT do polimorfismo rs696217, bem como o alelo G, demonstram associação significativa com a suscetibilidade à síndrome do intestino irritável, enquanto o alelo T parece ter um efeito protetor.
Shi <i>et al.</i> , 2021	248 indivíduos com transtorno de déficit de atenção e hiperatividade e 208 indivíduos controle.	Os autores identificaram e validaram o SNP rs696217 como associado a um risco maior de transtorno de déficit de atenção e hiperatividade.

## 5.4 DISCUSSÃO

Estudos recentes têm reconhecido que a genética desempenha um papel importante na obesidade, com herdabilidade genética estimada entre 40 e 70% (Clement; Boutin; Froguel, 2002; Singh; Kumar; Mahalingam, 2017; Dubern, 2019). A obesidade existe de forma monogênica e poligênica. A obesidade monogênica é causada principalmente por mutações genéticas em genes únicos e é responsável por um pequeno número de casos extremos de obesidade de início precoce. Estudos dessa forma rara de obesidade identificaram variantes genéticas em vários genes e forneceram informações iniciais sobre a patogênese da obesidade monogênica, incluindo variantes significativas no gene MC4R, que codifica o receptor MC4R, um receptor hipotalâmico associado à saciedade e ao gasto energético (Brouwers *et al.*, 2021). No entanto, GWAS já identificaram mais de 700 variantes genéticas (SNPs) em vários outros genes relacionados a vários fenótipos de sobrepeso e obesidade em associação com IMC (Locke *et al.*, 2015) corroborando a poligenética da obesidade. No entanto, a obesidade poligênica tem sido caracterizada como atenuada por um estilo de vida saudável, incluindo atividade física (Rask-Andersen *et al.*, 2017) e adesão a padrões alimentares saudáveis. Nesse sentido, compreender o papel das mutações nos genes chave e sua implicação na fisiopatologia da obesidade e na prática clínica favorece a busca de formas mais eficazes de diagnosticar e atenuar doenças metabólicas.

A diferenciação de SNPs deletérios e neutros é um dos objetivos da bioinformática e a análise de nsSNPs *in silico* representa uma ferramenta crucial para selecionar potenciais variantes que podem estar associadas a uma doença. Neste estudo, foram selecionadas variantes patogênicas relacionadas a fenótipos de obesidade e foram utilizados programas de predição de variantes *in silico* baseados em métodos de conservação evolutiva, métodos combinados de conservação e características estruturais e métodos de meta-predição para analisar uma variante substituída em genes centrais relacionados à obesidade. Para fortalecer a predição de nsSNPs e evitar vieses, vários programas foram usados.

De 20 nsSNPs selecionados após o processo de refinamento, 16 foram considerados deletérios. Quatro foram encontrados em bases de dados brasileiras e foram amplamente pesquisados. Um estudo publicado em 1999 por (Brown *et al.*, 1999) descreveu a mutação R70W no gene UCP3, que foi identificada em um

probando adolescente (15 anos) de ascendência chinesa com obesidade grave (IMC 51,0 kg/m<sup>2</sup>) e DM2. Na análise realizada no presente estudo, essa variante foi considerada deletéria com possível disfunção proteica. Em estudos funcionais anteriores, descobriu-se que R70W aboliu a atividade de UCP3 e afetou criticamente o domínio funcional da proteína, perdendo a capacidade de UCP3 de alterar o potencial de membrana mitocondrial (Brown *et al.*, 1999).

Estudos funcionais anteriores da variante T150I no gene MC4R revelaram que a variante produzia um resíduo que provoca a perda de função do receptor, reduzindo a ligação de ligantes endógenos (potência) e prejudicando a sinalização a jusante (Vaisse *et al.*, 2000; Govaerts *et al.*, 2005; Lubrano-Berthelier *et al.*, 2006; Xiang *et al.*, 2006; Xiang *et al.*, 2007). Em relação ao acompanhamento de pacientes e estudos de genotipagem/fenotipagem, relatos anteriores demonstraram que a variante T150I estava relacionada a pacientes com obesidade grave (Santos *et al.*, 2008; Vega *et al.*, 2016; Serra-Juhé *et al.*, 2020), obesidade monogênica (Vega *et al.*, 2016) e obesidade de início precoce (Serra-Juhé *et al.*, 2020). Aqui, descrevemos a variante T150I como deletéria e localizada em um domínio muito conservado; no entanto, a análise HOPE não indicou nenhuma alteração significativa na estrutura da proteína.

Em relação à variante R51Q no gene GHRL, foram encontrados 20 estudos anteriores. Estudos associando a variante com fenótipo de obesidade (Ukkola *et al.*, 2001), obesidade e DM2 (Krzyzanowska-Swiniarska; Kempa; Robaczyk, 2005), hipertensão (Berthold *et al.*, 2010; Spencer; Miller; Andrews, 2013), diabetes gestacional (Santos *et al.*, 2008) e síndrome metabólica (Mora *et al.*, 2015). Além disso, as ferramentas previstas revelaram que o resíduo Ile mutado estava localizado em um domínio importante para a ligação de outras moléculas, prejudicando a interação com outras proteínas/receptores, não apenas devido ao pequeno tamanho do resíduo, mas também devido à perda de carga positiva em relação ao resíduo do tipo selvagem. Resultados semelhantes foram encontrados para L72M na análise de predição. No entanto, ao contrário de R51Q, L72M foi heterogêneo em relação aos estudos recuperados. Muitos estudos anteriores relataram fenótipo de obesidade (Ukkola *et al.*, 2001; Ryu *et al.*, 2016), obesidade infantil (Korbonits *et al.*, 2002), diabetes (Ukkola; Kesäniemi, 2003) e síndrome metabólica (Steinle *et al.*, 2005). No entanto, outros estudos não demonstraram associação entre a variante e diabetes (Kim *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2006; Liu *et al.*,

2012), hipertensão e doença aterosclerótica (Berthold *et al.*, 2009) ou foram incapazes de confirmar uma associação com obesidade (Hinney *et al.*, 2002; Dantas *et al.*, 2011).

Os nsSNPs avaliados mostraram efeitos importantes na estrutura da proteína e requerem validação adicional com experimentos de laboratório capazes de confirmar os papéis patogênicos para doenças relacionadas. Este estudo pode ajudar a projetar estudos experimentais de mutagênese direcionados para detalhar os nsSNPs deletérios em genes centrais relacionados à obesidade. Além disso, prever o impacto da variante pode ajudar a associar variantes a características, que atualmente dependem de estudos observacionais. Aqui, foram selecionadas quatro variantes potenciais de alto risco em três genes, GHRL, UCP3 e MC4R.



## 6 CONCLUSÕES

Em conclusão, este estudo indica que a cirurgia bariátrica está associada a uma melhora metabólica considerável, observada pela diminuição acentuada de peso, comorbidades, uso de medicamentos e melhora de marcadores relacionados ao perfil inflamatório, glicêmico e lipídico. Entretanto, acende um alerta sobre as deficiências de micronutrientes e o risco cardiovascular no pós-operatório.

Na avaliação das deficiências de micronutrientes, em especial os relacionados com o metabolismo da vitamina D, observou-se que boa parte dos participantes foram submetidos ao procedimento bariátrico com concentrações de 25(OH)D abaixo do recomendado para esse grupo de pacientes e com concentrações de PTH acima do valor de referência. O aumento do PTH afeta a mobilização do cálcio esquelético, visando manter um estado de normocalcemia, dessa forma, concentrações elevadas de PTH antes e depois da cirurgia bariátrica podem ser um determinante de problemas de saúde óssea a longo prazo. A elevação sustentada das concentrações de PTH observada em um subconjunto de participantes destaca a necessidade de monitoramento pós-operatório e enfatiza a importância da avaliação pré-operatória. Além disso, neste estudo, a técnica cirúrgica SG demonstrou vantagens potenciais na prevenção de deficiências de micronutrientes, entretanto, no hospital avaliado, diferente da tendência mundial, a técnica mais utilizada ainda é o BGYR.

Numerosos estudos apoiam a hipótese de que baixas concentrações de HDL-C são um poderoso preditor de risco cardiovascular. Os pacientes acompanhados nessa coorte apresentaram diminuição considerável e muito rápida de HDL-C no primeiro mês pós-operatório e não apresentaram elevação das concentrações circulantes dessa lipoproteína no pós-operatório, mesmo um ano após o procedimento bariátrico. Em relação ao tamanho da partícula de HDL, não foram encontradas diferenças significativas antes e após a cirurgia. Ainda, o estudo *in vitro* realizado aqui revelou que componentes inflamatórios, insulina e o soro de um participante do estudo portador de obesidade e com baixa concentração de HDL-C 30 dias após a cirurgia bariátrica foram capazes de provocar estresse em células endoteliais. Esses resultados evidenciam o risco cardiovascular a que esses pacientes estão expostos.

Por fim, o estudo *in silico* realizado buscou variantes alélicas e a identificação de genes centrais relacionados à obesidade que pudessem explicar os diferentes fenótipos de magreza ou sobrepeso/obesidade e auxiliar no entendimento das diversas proteínas envolvidas. Esse estudo identificou quatro nsSNPs potencialmente patogênicos em bases de dados brasileiras: L72M e R51Q no gene GHRL, R70W no gene UCP3 e T150I no gene MC4R. As variantes encontradas têm efeitos importantes nas estruturas das proteínas e requerem comprovação experimental da patogenicidade na obesidade. Essa comprovação pode ajudar a prever o impacto da variante e associar diferentes variantes a diferentes características fenotípicas.

## 7 PERSPECTIVAS

1. Lipidômica sérica total e lipidômica de HDL:

Análise lipidômica por cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas;

2. Separação das Subfrações de HDL:

Eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante para análise das características específicas de cada subfração de HDL;

3. Determinação da CETP:

Determinação da CETP na transferência de ésteres de colesterol entre as lipoproteínas;

4. Docking Agonistas Endógenos e Exógenos:

O docking de agonistas endógenos e potenciais agonistas exógenos em proteínas associadas às variantes genéticas propostas neste estudo.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M. Central and peripheral control of food intake. **Endocrine regulations**, 51, n. 1, 2017.
- ABLETT, A.; BOYLE, B.; AVENELL, A. Fractures in Adults After Weight Loss from Bariatric Surgery and Weight Management Programs for Obesity: Systematic Review and Meta-analysis. **Obesity surgery**, 29, n. 4, 2019.
- ABOU-SAMRA, A.; JÜPPNER, H.; FORCE, T.; FREEMAN, M. *et al.* Expression cloning of a common receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide from rat osteoblast-like cells: a single receptor stimulates intracellular accumulation of both cAMP and inositol trisphosphates and increases intracellular free calcium. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 89, n. 7, 1992.
- ACOSTA, A.; CAMILLERI, M.; ABU, D., B; CALDERON, G. *et al.* Selection of Antiobesity Medications Based on Phenotypes Enhances Weight Loss: A Pragmatic Trial in an Obesity Clinic. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 29, n. 4, 2021.
- ADAMS, J.; RAFISON, B.; WITZEL, S.; REYES, R. *et al.* Regulation of the extrarenal CYP27B1-hydroxylase. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, 144 Pt A, 2014.
- ADAMS, T.; MEHTA, T.; DAVIDSON, L.; HUNT, S. All-Cause and Cause-Specific Mortality Associated with Bariatric Surgery: A Review. **Current atherosclerosis reports**, 17, n. 12, 2015.
- ADZHUBEI, I.; SCHMIDT, S.; PESHKIN, L.; RAMENSKY, V. *et al.* A method and server for predicting damaging missense mutations. **Nature methods**, 7, n. 4, 2010.
- AFSHIN, A.; FOROUZANFAR, M.; REITSMA, M.; SUR, P. *et al.* Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. **The New England journal of medicine**, 377, n. 1, 2017.
- AIR, E.; STROWSKI, M.; BENOIT, S.; CONARELLO, S. *et al.* Small molecule insulin mimetics reduce food intake and body weight and prevent development of obesity. **Nature medicine**, 8, n. 2, 2002.
- AKDENIZ, D.; TUNCER, S.; KEBUDI, R.; CELIK, B. *et al.* Investigation of new candidate genes in retinoblastoma using the TruSight One "clinical exome" gene panel. **Molecular genetics & genomic medicine**, 7, n. 8, 2019.
- ALBERS, J.; SLEE, A.; FLEG, J.; O'BRIEN, K. *et al.* Relationship of baseline HDL subclasses, small dense LDL and LDL triglyceride to cardiovascular events in the AIM-HIGH clinical trial. **Atherosclerosis**, 251, 2016..
- ALBUQUERQUE, D.; ESTÉVEZ, M.; VÍBORA, P.; GIRALT, P. *et al.* Novel variants in the MC4R and LEPR genes among severely obese children from the Iberian population. **Annals of human genetics**, 78, n. 3, 2014.

ALBRIGHT, F. A page out of the history of hyperparathyroidism. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 8, n. 8, 1948.

ANDO, T.; KOMAKI, G.; NARUO, T.; OKABE, K. *et al.* Possible role of preproghrelin gene polymorphisms in susceptibility to bulimia nervosa. **American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics**, 141B, n. 8, 2006.

ANGULO, M.; BUTLER, M.; CATALETTO, M. Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. **Journal of endocrinological investigation**, 38, n. 12, 2015.

ANVISA, A. N. D. V. S. **Sibutramina**. 2009. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351248265200712/?nomeProduto=sibutramina>. Acesso em: 22/08/2023.

ANVISA, A. N. D. V. S. **Orlistate**. 2015. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351103413201318/>. Acesso em: 22/08/2023.

ANVISA, A. N. D. V. S. **CONTRAVE**. 2021. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351766066201809/?nomeProduto=contrave>. Acesso em: 22/08/2023.

ANVISA, A. N. D. V. S. **SAXENDA**. 2022. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351358815201494/>. Acesso em: 22/08/2023.

ANVISA, A. N. D. V. S. **MYALEPT**. 2023a. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351154403202232/?nomeProduto=Myalept>. Acesso em: 22/08/2023.

ANVISA, A. N. D. V. S. **Wegovy**. 2023b. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351164882202114/?substancia=26316>. Acesso em: 22/08/2023.

APOVIAN, C.; ARONNE, L.; RUBINO, D.; STILL, C. *et al.* A randomized, phase 3 trial of naltrexone SR/bupropion SR on weight and obesity-related risk factors (COR-II). **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 21, n. 5, 2013.

ARON-WISNEWSKY, J.; JULIA, Z.; POITOU, C.; BOUILLLOT, J. *et al.* Effect of bariatric surgery-induced weight loss on SR-BI-, ABCG1-, and ABCA1-mediated cellular cholesterol efflux in obese women. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 96, n. 4, 2011.

ASKEW, F. A.; BOURDILLON, R. B.; BRUCE, H. M.; JENKINS, R. G. C. *et al.* The distillation of vitamin D. 107, n. 748, 1930.

ASSARI, S.; WISSEH, C.; BAZARGAN, M. Obesity and Polypharmacy among African American Older Adults: Gender as the Moderator and Multimorbidity as the Mediator. **International journal of environmental research and public health**, 16, n. 12, 2019.

ASSMANN, G.; NOFER, J. Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. **Annual review of medicine**, 54, 2003.

BADIMON, J.; BADIMON, L.; FUSTER, V. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. **The Journal of clinical investigation**, 85, n. 4, 1990.

BALDINI, G.; PHELAN, K. The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. **The Journal of endocrinology**, 241, n. 1, 2019.

BARREA, L.; VERDE, L.; GRANT, W.; FRIAS-TORAL, E. *et al.* Vitamin D: A Role Also in Long COVID-19? **Nutrients**, 14, n. 8, 2022.

BARSH, G.; SCHWARTZ, M. Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. **Nature reviews. Genetics**, 3, n. 8, 2002.

BARTER, P.; GOTTO, A.; LAROSA, J.; MARONI, J. *et al.* HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. **The New England journal of medicine**, 357, n. 13, 2007.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A.; HOBBS, R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis**, 168, n. 2, 2003.

BAYS, H. Adiposopathy is "sick fat" a cardiovascular disease? **Journal of the American College of Cardiology**, 57, n. 25, 2011.

BAYS, H.; KOTHARI, S.; AZAGURY, D.; MORTON, J. *et al.* Lipids and bariatric procedures Part 2 of 2: scientific statement from the American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS), the National Lipid Association (NLA), and Obesity Medicine Association (OMA). **Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery**, 12, n. 3, 2016.

BAYS, H.; TOTH, P.; KRIS-ETHERTON, P.; ABATE, N. *et al.* Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. **Journal of clinical lipidology**, 7, n. 4, 2013.

BECHER, T.; PALANISAMY, S.; KRAMER, D.; ELJALBY, M. *et al.* Brown adipose tissue is associated with cardiometabolic health. **Nature medicine**, 27, n. 1, 2021.

BENDL, J.; STOURAC, J.; SALANDA, O.; PAVELKA, A. *et al.* PredictSNP: robust and accurate consensus classifier for prediction of disease-related mutations. **PLoS computational biology**, 10, n. 1, 2014.

BENZINOU, M.; CHÈVRE, J.; WARD, K.; LECOEUR, C. *et al.* Endocannabinoid receptor 1 gene variations increase risk for obesity and modulate body mass index in European populations. **Human molecular genetics**, 17, n. 13, 2008.

BERGINER, V.; SHANY, S.; ALKALAY, D.; BERGINER, J. *et al.* Osteoporosis and increased bone fractures in cerebrotendinous xanthomatosis. **Metabolism: clinical and experimental**, 42, n. 1, 1993.

BERRINGTON DE GONZALEZ, A.; HARTGE, P.; CERHAN, J.; FLINT, A. *et al.* Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. **The New England journal of medicine**, 363, n. 23, 2010.

BERTHOLD, H.; GIANNAKIDOU, E.; KRONE, W.; MANTZOROS, C. *et al.* The Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene is associated with a decreased risk for type 2 diabetes. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, 399, n. 1-2, 2009.

BERTHOLD, H.; GIANNAKIDOU, E.; KRONE, W.; TRÉGOUËT, D. *et al.* Influence of ghrelin gene polymorphisms on hypertension and atherosclerotic disease. **Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension**, 33, n. 2, 2010.

BHANGALE, T.; RIEDER, M.; LIVINGSTON, R.; NICKERSON, D. Comprehensive identification and characterization of diallelic insertion-deletion polymorphisms in 330 human candidate genes. **Human molecular genetics**, 14, n. 1, 2005.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society**, 235, 2016.

BIKLE, D.; PATZEK, S.; WANG, Y. Physiologic and pathophysiologic roles of extra renal CYP27b1: Case report and review. **Bone reports**, 8, 2018.

BIKLE, D.; SIITERI, P.; RYZEN, E.; HADDAD, J. Serum protein binding of 1,25-dihydroxyvitamin D: a reevaluation by direct measurement of free metabolite levels. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 61, n. 5, 1985.

BIKLE, D. D. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. **Chemistry & biology**, 21, n. 3, 2014.

BJÖRNSSON, E.; ADIELS, M.; TASKINEN, M.; BORÉN, J. Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. **Current opinion in lipidology**, 28, n. 1, 2017.

BLAND, C.; QUIDLEY, A.; LOVE, B.; YEAGER, C. *et al.* Long-term pharmacotherapy considerations in the bariatric surgery patient. **American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists**, 73, n. 16, 2016.

BOMBERG, E.; RYDER, J.; BRUNDAGE, R.; STRAKA, R. *et al.* Precision medicine in adult and pediatric obesity: a clinical perspective. **Therapeutic advances in endocrinology and metabolism**, 10, 2019.

BONOMINI, F.; TENGATTINI, S.; FABIANO, A.; BIANCHI, R. *et al.* Atherosclerosis and oxidative stress. **Histology and histopathology**, 23, n. 3, 2008.

BOUCHARD, C.; TREMBLAY, A.; DESPRÉS, J.; NADEAU, A. *et al.* The response to long-term overfeeding in identical twins. **The New England journal of medicine**, 322, n. 21, 1990.

BRATTI, L.; DO CARMO, Í.; VILELA, T.; SOUZA, L. *et al.* Bariatric surgery improves clinical outcomes and adiposity biomarkers but not inflammatory cytokines SAA and MCP-1 after a six-month follow-up. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, 81, n. 3, 2021.

BRAY, G.; KIM, K.; WILDING, J. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 18, n. 7, 2017.

BRENZA, H.; KIMMEL-JEHAN, C.; JEHAN, F.; SHINKI, T. *et al.* Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase gene promoter. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 95, n. 4, 1998.

BROMBERG, Y.; ROST, B. SNAP: predict effect of non-synonymous polymorphisms on function. **Nucleic acids research**, 35, n. 11, 2007.

BROUWERS, B.; DE OLIVEIRA, E.; MARTI-SOLANO, M.; MONTEIRO, F. *et al.* Human MC4R variants affect endocytosis, trafficking and dimerization revealing multiple cellular mechanisms involved in weight regulation. **Cell reports**, 34, n. 12, 2021.

BROWN, A.; DOLAN, J.; WILLI, S.; GARVEY, W. *et al.* Endogenous mutations in human uncoupling protein 3 alter its functional properties. **FEBS letters**, 464, n. 3, 1999.

BROWN, A. M.; WILLI, S. M.; ARGYROPOULOS, G.; GARVEY, W. T. A novel missense mutation, R70W, in the human uncoupling protein 3 gene in a family with type 2 diabetes. **Human Mutation**, n. 13, p. 508, 1999.

BROWN, E. Four-parameter model of the sigmoidal relationship between parathyroid hormone release and extracellular calcium concentration in normal and abnormal parathyroid tissue. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 56, n. 3, 1983.

BROWN, M.; GOLDSTEIN, J. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science (New York, N.Y.)**, 232, n. 4746, 1986.



BUCHWALD, H.; AVIDOR, Y.; BRAUNWALD, E.; JENSEN, M. D. *et al.* Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **Jama**, 292, n. 14, p. 1724-1737, 2004.

BULTMAN, S.; MICHAUD, E.; WOYCHIK, R. Molecular characterization of the mouse agouti locus. **Cell**, 71, n. 7, 1992.

BUTLER, A.; CONE, R. Knockout studies defining different roles for melanocortin receptors in energy homeostasis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 994, 2003.

CAI, G.; SHI, G.; XUE, S.; LU, W. The atherogenic index of plasma is a strong and independent predictor for coronary artery disease in the Chinese Han population. **Medicine**, 96, n. 37, 2017.

CAMONT, L.; LHOMME, M.; RACHED, F.; LE GOFF, W. *et al.* Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids: relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, antithrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 33, n. 12, 2013.

CAMPA, D.; PARDINI, B.; NACCARATI, A.; VODICKOVA, L. *et al.* Polymorphisms of genes coding for ghrelin and its receptor in relation to colorectal cancer risk: a two-step gene-wide case-control study. **BMC gastroenterology**, 10, 2010.

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev**, 84, n. 1, p. 277-359, 2004.

CAPRIOTTI, E.; CALABRESE, R.; CASADIO, R. Predicting the insurgence of human genetic diseases associated to single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information. **Bioinformatics (Oxford, England)**, 22, n. 22, 2006.

CARRELLI, A.; BUCOVSKY, M.; HORST, R.; CREMERS, S. *et al.* Vitamin D Storage in Adipose Tissue of Obese and Normal Weight Women. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, 32, n. 2, 2017.

CASELLA, C.; MOLFINO, S.; MITTEMPERGHER, F.; CAPPELLI, C. *et al.* Predictive Factors of Secondary Normocalcemic Hyperparathyroidism after Roux-en-Y Gastric Bypass. **International journal of endocrinology**, 2018.

CASTELLI, W. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. **The Canadian journal of cardiology**, 4 Suppl A, 1988.

CFM, C. F. D. M. **Resolução nº 2.131/15**. 2015. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&data=13/01/2016&pagina=66>. Acesso em: 23/08/2023.

CHACON, D.; BERNARDINO, T.; GERAGHTY, F.; CARRION, R. A. *et al.* Bariatric Surgery With Roux-En-Y Gastric Bypass or Sleeve Gastrectomy for Treatment of Obesity and Comorbidities: Current Evidence and Practice. **Cureus**, 14, n. 6, 2022.

CHAMI, N.; PREUSS, M.; WALKER, R.; MOSCATI, A. *et al.* The role of polygenic susceptibility to obesity among carriers of pathogenic mutations in MC4R in the UK Biobank population. **PLoS medicine**, 17, n. 7, 2020.

CHANDEL, N. Lipid Metabolism. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 13, n. 9, 2021.

CHANG, S.; STOLL, C.; SONG, J.; VARELA, J. *et al.* The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. **JAMA surgery**, 149, n. 3, 2014.

CHAPMAN, M.; GOLDSTEIN, S.; LAGRANGE, D.; LAPLAUD, P. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. **Journal of lipid research**, 22, n. 2, 1981.

CHEN, H.; CHARLAT, O.; TARTAGLIA, L.; WOOLF, E. *et al.* Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. **Cell**, 84, n. 3, 1996.

CHEN, L.; ZENG, W.; CAI, Y.; FENG, K. *et al.* Predicting Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification of drugs by integrating chemical-chemical interactions and similarities. **PloS one**, 7, n. 4, 2012.

CHENG, J.; MOTOLA, D.; MANGELSDORF, D.; RUSSELL, D. De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. **The Journal of biological chemistry**, 278, n. 39, 2003.

CHOI, Y.; SIMS, G.; MURPHY, S.; MILLER, J. *et al.* Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. **PloS one**, 7, n. 10, 2012.

CHOKKALINGAM, A.; METAYER, C.; SCELO, G.; CHANG, J. *et al.* Fetal growth and body size genes and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Cancer causes & control : CCC**, 23, n. 9, 2012.

CHOQUET, H.; MEYRE, D. Genetics of Obesity: What have we Learned? **Current genomics**, 12, n. 3, 2011.

CHRISTAKOS, S.; AJIBADE, D.; DHAWAN, P.; FECHNER, A. *et al.* Vitamin D: metabolism. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, 39, n. 2, 2010.

CHU, D.; GAWRONSKA-KOZAK, B. Brown and white adipocytes: Same function, but different origin and response. **Biochimie**, 138, 2017.

CINTI, S. Pink Adipocytes. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, 29, n. 9, 2018.

CINTI, S.; MITCHELL, G.; BARBATELLI, G.; MURANO, I. *et al.* Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. **Journal of lipid research**, 46, n. 11, 2005.

CLAESSION-WELSH, L.; DEJANA, E.; MCDONALD, D. Permeability of the Endothelial Barrier: Identifying and Reconciling Controversies. **Trends in molecular medicine**, 27, n. 4, 2021.

CLAUSSNITZER, M.; DANKEL, S.; KIM, K.; QUON, G. *et al.* FTO Obesity Variant Circuitry and Adipocyte Browning in Humans. **The New England journal of medicine**, 373, n. 10, 2015.

CLEMENT, K.; BOUTIN, P.; FROGUEL, P. Genetics of obesity. **American journal of pharmacogenomics : genomics-related research in drug development and clinical practice**, 2, n. 3, 2002.

CLÉMENT, K.; VAN DEN AKKER, E.; ARGENTE, J.; BAHM, A. *et al.* Efficacy and safety of setmelanotide, an MC4R agonist, in individuals with severe obesity due to LEPR or POMC deficiency: single-arm, open-label, multicentre, phase 3 trials. **The lancet. Diabetes & endocrinology**, 8, n. 12, 2020.

COLL, T.; BARROSO, E.; ALVAREZ-GUARDIA, D.; SERRANO, L. *et al.* The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor beta/delta on the Inflammatory Basis of Metabolic Disease. **PPAR research**, 2010.

COLLINS, T.; READ, M.; NEISH, A.; WHITLEY, M. *et al.* Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, 9, n. 10, 1995.

COLLUM, M.; SIMMONDS, N.; ERNESTINE BECKER, J.; SHIPLEY, P. G. Studies on experimental rickets: XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. **Journal of Biological Chemistry**, 53, n. 2, p. 293-312, 1922.

COMINACINI, L.; PASINI, A.; GARBIN, U.; DAVOLI, A. *et al.* Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) binding to ox-LDL receptor-1 in endothelial cells induces the activation of NF-kappaB through an increased production of intracellular reactive oxygen species. **The Journal of biological chemistry**, 275, n. 17, 2000.

CYPESS, A. Reassessing Human Adipose Tissue. **The New England journal of medicine**, 386, n. 8, 2022.

DA FONSECA, A.; ABREU, G.; ZEMBRZUSKI, V.; CAMPOS JUNIOR, M. *et al.* The association of the fat mass and obesity-associated gene (FTO) rs9939609 polymorphism and the severe obesity in a Brazilian population. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**, 12, 2019.

DANKERS, W.; COLIN, E.; VAN HAMBURG, J.; LUBBERTS, E. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. **Frontiers in immunology**, 7, 2017.

DANTAS, V.; FURTADO-ALLE, L.; SOUZA, R.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. Obesity and variants of the GHRL (ghrelin) and BCHE (butyrylcholinesterase) genes. **Genetics and molecular biology**, 34, n. 2, 2011.

DARDENNE, O.; PRUD'HOMME, J.; ARABIAN, A.; GLORIEUX, F. *et al.* Targeted inactivation of the 25-hydroxyvitamin D(3)-1(alpha)-hydroxylase gene (CYP27B1) creates an animal model of pseudovitamin D-deficiency rickets. **Endocrinology**, 142, n. 7, 2001.

DARDENNES, R.; ZIZZARI, P.; TOLLE, V.; FOULON, C. *et al.* Family trios analysis of common polymorphisms in the obestatin/ghrelin, BDNF and AGRP genes in patients with Anorexia nervosa: association with subtype, body-mass index, severity and age of onset. **Psychoneuroendocrinology**, 32, n. 2, 2007.

DASH, S.; XIAO, C.; LEWIS, G. Effects of bariatric surgery on hepatic and intestinal lipoprotein particle metabolism. **Current opinion in lipidology**, 27, n. 1, 2016.

DAUPHINEE, S.; KARSAN, A. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, 86, n. 1, 2006.

DE MARTIN, R.; HOETH, M.; HOFER-WARBINEK, R.; SCHMID, J. The transcription factor NF-kappa B and the regulation of vascular cell function. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 20, n. 11, 2000.

DING, C.; PARAMESWARAN, V.; BLIZZARD, L.; BURGESS, J. *et al.* Not a simple fat-soluble vitamin: Changes in serum 25-(OH)D levels are predicted by adiposity and adipocytokines in older adults. **Journal of internal medicine**, 268, n. 5, 2010.

DING, L.; FAN, Y.; LI, H.; ZHANG, Y. *et al.* Comparative effectiveness of bariatric surgeries in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: A network meta-analysis of randomized controlled trials. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 21, n. 8, 2020.

DIRSCH, V.; STUPPNER, H.; VOLLMAR, A. The Griess assay: suitable for a bio-guided fractionation of anti-inflammatory plant extracts? **Planta medica**, 64, n. 5, 1998.

DOECKE, J.; ZHAO, Z.; STARK, M.; GREEN, A. *et al.* Single nucleotide polymorphisms in obesity-related genes and the risk of esophageal cancers. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, 17, n. 4, 2008.

DOS SANTOS, I.; FRIGERI, H.; DAGA, D.; REA, R. *et al.* The ghrelin gene allele 51Q (rs34911341) is a protective factor against the development of gestational

diabetes. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, 411, n. 11-12, 2010.

DRINCIC, A.; ARMAS, L.; VAN DIEST, E.; HEANEY, R. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 20, n. 7, 2012.

DUBERN, B. [Genetics and epigenetics of obesity: keys to understand]. **La Revue du praticien**, 69, n. 9, 2019.

DUNN, P. Francis Glisson (1597-1677) and the "discovery" of rickets. **Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition**, 78, n. 2, 1998.

EATON, S.; KONNER, M.; SHOSTAK, M. Stone agers in the fast lane: chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. **The American journal of medicine**, 84, n. 4, 1988.

ECKEL, R. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. **The New England journal of medicine**, 320, n. 16, 1989.

EISENBERG, D.; SCHWARZ, E.; KOMAROMY, M.; WALL, R. Analysis of membrane and surface protein sequences with the hydrophobic moment plot. **Journal of molecular biology**, 179, n. 1, 1984.

EISENBERG, D.; SHIKORA, S.; AARTS, E.; AMINIAN, A. *et al.* 2022 American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS) and International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders (IFSO): Indications for Metabolic and Bariatric Surgery. **Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery**, 18, n. 12, 2022.

ELKHWANKY, M.; KUMMU, O.; PILTONEN, T.; LARU, J. *et al.* Obesity Represses CYP2R1, the Vitamin D 25-Hydroxylase, in the Liver and Extrahepatic Tissues. **JBMR plus**, 4, n. 11, 2020.

ELKS, C.; DEN, H. M.; ZHAO, J.; SHARP, S. *et al.* Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. **Frontiers in endocrinology**, 3, 2012.

EMA, E. M. A. **XENICAL - orlistat**. 1998. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xenical-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/xenical-epar-product-information_en.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

EMA, E. M. A. **Mysimba**. 2015a. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mysimba-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mysimba-epar-product-information_en.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

EMA, E. M. A. **Saxenda**. 2015b. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/saxenda-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/saxenda-epar-product-information_en.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

EMA, E. M. A. **Myalepta**. 2018. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/myalepta-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/myalepta-epar-product-information_en.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

EMA, E. M. A. **IMCIVREE**. 2021. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imcivree-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imcivree-epar-product-information_en.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

EMA, E. M. A. **Wegovy**. 2023. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/wegovy-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/wegovy-epar-product-information_en.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

ENERBÄCK, S. The origins of brown adipose tissue. **The New England journal of medicine**, 360, n. 19, 05/07/2009 2009.

ESVELT, R. P.; SCHNOES, H. K.; DELUCA, H. F. Vitamin D3 from rat skins irradiated in vitro with ultraviolet light. **Arch Biochem Biophys**, 188, n. 2, p. 282-286, 1978.

FALUDI, A.; IZAR, M.; SARAIVA, J.; CHACRA, A. *et al.* Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 109, n. 2 Supl 1, 2017.

FAROOQI, I.; JEBB, S.; LANGMACK, G.; LAWRENCE, E. *et al.* Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. **The New England journal of medicine**, 341, n. 12, 1999.

FAROOQI, I.; YEO, G.; KEOGH, J.; AMINIAN, S. *et al.* Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. **The Journal of clinical investigation**, 106, n. 2, 2000.

FAROOQI, S.; O'RAHILLY, S. Genetics of obesity in humans. **Endocrine reviews**, 27, n. 7, 2006.

FDA. **QSYMIA (phentermine and topiramate extended-release)**. 2012. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2012/022580s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/022580s000lbl.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

FDA. **Contrave**. 2014a. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2014/200063s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/200063s000lbl.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

FDA. **MYALEPT (metreleptin) for injection for subcutaneous use.**, 2014b. Acesso em: 22/08/2023.

FDA. **SAXENDA (liraglutide)**. 2020. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/206321s012s013s014lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/206321s012s013s014lbl.pdf). Acesso em: 22/08/2023.

FDA. **Wegovy**. 2021. Disponível em:  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2022/215256s005lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/215256s005lbl.pdf).  
Acesso em: 22/08/2023.

FDA. **IMCIVREE (setmelanotide) injection, for subcutaneous use.**, 2022.  
Disponível em:  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2022/213793s001lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/213793s001lbl.pdf).  
Acesso em: 22/08/2023.

FDA, F. A. D. A. **XENICAL - orlistat capsule**. 2009. Disponível em:  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2009/020766s026lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/020766s026lbl.pdf).  
Acesso em: 22/08/2023.

FEINLEIB, M.; GARRISON, R.; FABBITZ, R.; CHRISTIAN, J. *et al.* The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results. **American journal of epidemiology**, 106, n. 4, 1977.

FILIPPATOS, T.; KEI, A.; ELISAF, M. Anacetrapib, a New CETP Inhibitor: The New Tool for the Management of Dyslipidemias? **Diseases (Basel, Switzerland)**, 5, n. 4, 2017.

FLOREZ, H.; MARTINEZ, R.; CHACRA, W.; STRICKMAN-STEIN, N. *et al.* Outdoor exercise reduces the risk of hypovitaminosis D in the obese. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, 103, n. 3-5, 2007.

FOGEL, R.; GROTTÉ, N. Major Findings from The Changing Body: Health, Nutrition, and Human Development in the Western World since 1700. **Journal of economic asymmetries**, 8, n. 2, 2011.

FORD, E.; AJANI, U.; MCGUIRE, L.; LIU, S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. **Diabetes care**, 28, n. 5, 2005.

FORD, E.; ZHAO, G.; LI, C.; PEARSON, W. Serum concentrations of vitamin D and parathyroid hormone and prevalent metabolic syndrome among adults in the United States. **Journal of diabetes**, 1, n. 4, 2009.

FORTE, F.; CALCATERRA, I.; LUPOLI, R.; ORSINI, R. *et al.* Association of apolipoprotein levels with peripheral arterial disease: a meta-analysis of literature studies. **European journal of preventive cardiology**, 28, n. 18, 2022.

FRANCO, M.; BILAL, U.; ORDUÑEZ, P.; BENET, M. *et al.* Population-wide weight loss and regain in relation to diabetes burden and cardiovascular mortality in Cuba 1980-2010: repeated cross sectional surveys and ecological comparison of secular trends. **BMJ (Clinical research ed.)**, 346, 2013.

FRANK, S.; HENI, M.; MOSS, A.; VON SCHNURBEIN, J. *et al.* Leptin therapy in a congenital leptin-deficient patient leads to acute and long-term changes in homeostatic, reward, and food-related brain areas. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 96, n. 8, 2011.

FRAYLING, T.; TIMPSON, N.; WEEDON, M.; ZEGGINI, E. *et al.* A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. **Science (New York, N.Y.)**, 316, n. 5826, 2007.

FRIEDMAN, J.; HALAAS, J. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, 395, n. 6704, 1998.

FRIKKE-SCHMIDT, R. HDL cholesterol and apolipoprotein A-I concentrations and risk of atherosclerotic cardiovascular disease: Human genetics to unravel causality. **Atherosclerosis**, 299, 2020.

FRÜHBECK, G.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; MURUZÁBAL, F.; BURRELL, M. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, 280, n. 6, 2001.

FU, G.; LIN, D.; ZHANG, M.; BIKLE, D. *et al.* Cloning of human 25-hydroxyvitamin D-1 alpha-hydroxylase and mutations causing vitamin D-dependent rickets type 1. **Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)**, 11, n. 13, 1997.

FUNK, C. On the chemical nature of the substance which cures polyneuritis in birds induced by a diet of polished rice. **The Journal of physiology**, 43, n. 5, 1911.

FÉLÉTOU, M. Endothelium-Dependent Hyperpolarization and Endothelial Dysfunction. **Journal of cardiovascular pharmacology**, 67, n. 5, 2016.

FÖRSTERMANN, U.; LI, H. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling. **British journal of pharmacology**, 164, n. 2, 2011.

FÖRSTERMANN, U.; XIA, N.; LI, H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. **Circulation research**, 120, n. 4, 2017.

FUTAGAMI, S.; SHIMPUKU, M.; KAWAGOE, T.; IZUMI, N. *et al.* The preproghrelin 3056 TT genotype is associated with the feeling of hunger and low acylated ghrelin levels in Japanese patients with Helicobacter pylori-negative functional dyspepsia. **Internal medicine (Tokyo, Japan)**, 52, n. 11, 2013.

GAO, X.; HUA, X.; WANG, X.; XU, W. *et al.* Efficacy and safety of semaglutide on weight loss in obese or overweight patients without diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Frontiers in pharmacology**, 13, 2022.

GARCIA-MARIRRODRIGA, I.; AMAYA-ROMERO, C.; RUIZ-DIAZ, G.; FÉRNANDEZ, S. *et al.* Evolution of lipid profiles after bariatric surgery. **Obesity surgery**, 22, n. 4, 2012.

GENUA, I.; RAMOS, A.; CAIMARI, F.; BALAGUÉ, C. *et al.* Effects of Bariatric Surgery on HDL Cholesterol. **Obesity surgery**, 30, n. 5, 2020.



GEOFFROY, M.; CHARLOT-LAMBRECHT, I.; CHRUSCIEL, J.; GAUBIL-KALADJIAN, I. *et al.* Impact of Bariatric Surgery on Bone Mineral Density: Observational Study of 110 Patients Followed up in a Specialized Center for the Treatment of Obesity in France. **Obesity surgery**, 29, n. 6, 2019.

GHALANDARI, H.; HOSSEINI-ESFAHANI, F.; MIRMIRAN, P. The Association of Polymorphisms in Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity and the Related Metabolic Disturbances: A Review. **International journal of endocrinology and metabolism**, 13, n. 3, 2015.

GIOLO, S.; SOLER, J.; GREENWAY, S.; ALMEIDA, M. *et al.* Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. **European journal of human genetics : EJHG**, 20, n. 1, 2012.

GIORDANO, A.; SMORLESI, A.; FRONTINI, A.; BARBATELLI, G. *et al.* White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. **European journal of endocrinology**, 170, n. 5, 2014.

GLOMSET, J.; JANSSEN, E.; KENNEDY, R.; DOBBINS, J. Role of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase in the metabolism of high density lipoproteins. **Journal of lipid research**, 7, n. 5, 1966.

GOFF JR, D.; LLOYD-JONES, D.; BENNETT, G.; COADY, S. *et al.* 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation**, 129, n. 25 Suppl 2, 2014.

GOMES-ROCHA, S.; COSTA-PINHO, A.; PAIS-NETO, C.; DE ARAÚJO PEREIRA, A. *et al.* Roux-en-Y Gastric Bypass Vs Sleeve Gastrectomy in Super Obesity: a Systematic Review and Meta-Analysis. **Obesity surgery**, 32, n. 1, 2022.

GOVAERTS, C.; SRINIVASAN, S.; SHAPIRO, A.; ZHANG, S. *et al.* Obesity-associated mutations in the melanocortin 4 receptor provide novel insights into its function. **Peptides**, 26, n. 10, 2005.

GRAFF, M.; SCOTT, R.; JUSTICE, A.; YOUNG, K. *et al.* Genome-wide physical activity interactions in adiposity - A meta-analysis of 200,452 adults. **PLoS genetics**, 13, n. 4, 2017.

GREEN, D.; REED, J. Mitochondria and apoptosis. **Science (New York, N.Y.)**, 281, n. 5381, 1998.

GREEN, L.; WAGNER, D.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [<sup>15</sup>N]nitrate in biological fluids. **Analytical biochemistry**, 126, n. 1, 1982.

GRILL, H. Distributed neural control of energy balance: contributions from hindbrain and hypothalamus. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 14 Suppl 5, 2006.

GROVER, A.; QUAYE, E.; BRYCHTA, R.; CHRISTENSEN, J. *et al.* Leptin Decreases Energy Expenditure Despite Increased Thyroid Hormone in Patients With

Lipodystrophy. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 106, n. 10, 2021.

GUASCH, A.; BULLÓ, M.; RABASSA, A.; BONADA, A. *et al.* Plasma vitamin D and parathormone are associated with obesity and atherogenic dyslipidemia: a cross-sectional study. **Cardiovascular diabetology**, 11, 2012.

GUEORGUIEV, M.; WILTSHIRE, S.; GARCIA, E.; MEIN, C. *et al.* Examining the candidacy of ghrelin as a gene responsible for variation in adult stature in a United Kingdom population with type 2 diabetes. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 92, n. 6, 2007.

GUDMUNDSSON, S.; SINGER-BERK, M.; WATTS, N.; PHU, W. *et al.* Variant interpretation using population databases: Lessons from gnomAD. **Human mutation**, 43, n. 8, 2022.

GURVEN, M.; JAEGGI, A.; KAPLAN, H.; CUMMINGS, D. Physical activity and modernization among Bolivian Amerindians. **PloS one**, 8, n. 1, 2013.

GUZIK, T.; KORBUT, R.; ADAMEK-GUZIK, T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, 54, n. 4, 2003.

HAINER, V.; STUNKARD, A.; KUNESOVÁ, M.; PARÍZKOVÁ, J. *et al.* A twin study of weight loss and metabolic efficiency. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, 25, n. 4, 2001.

HALES, C.; FRYAR, C.; CARROLL, M.; FREEDMAN, D. *et al.* Trends in Obesity and Severe Obesity Prevalence in US Youth and Adults by Sex and Age, 2007-2008 to 2015-2016. **JAMA**, 319, n. 16, 2018.

HALPERN, B.; MANCINI, M.; DE MELO, M.; LAMOUNIER, R. *et al.* Proposal of an obesity classification based on weight history: an official document by the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society for the Study of Obesity and Metabolic Syndrome (ABESO). **Archives of endocrinology and metabolism**, 66, n. 2, 2022.

HARMS, M.; SEALE, P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. **Nature medicine**, 19, n. 10, 2013.

HARRISON, D.; GRIENGLING, K.; LANDMESSER, U.; HORNIG, B. *et al.* Role of oxidative stress in atherosclerosis. **The American journal of cardiology**, 91, n. 3A, 2003.

HASSTEDT, S.; RAMIREZ, M.; KUIDA, H.; WILLIAMS, R. Recessive inheritance of a relative fat pattern. **American journal of human genetics**, 45, n. 6, 1989.

HAVEL, R. The formation of LDL: mechanisms and regulation. **Journal of lipid research**, 25, n. 13, 1984.

HAWS, R.; GORDON, G.; HAN, J.; YANOVSKI, J. *et al.* The efficacy and safety of setmelanotide in individuals with Bardet-Biedl syndrome or Alström syndrome: Phase 3 trial design. **Contemporary clinical trials communications**, 22, 2021.

HAYDEN, M.; DIXON, J.; DIXON, M.; SHEA, T. *et al.* Characterization of the improvement in depressive symptoms following bariatric surgery. **Obesity surgery**, 21, n. 3, 2011.

HEBE BRAND, J.; ALBAYRAK, Ö.; ADAN, R.; ANTEL, J. *et al.* "Eating addiction", rather than "food addiction", better captures addictive-like eating behavior. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, 47, 2014.

HEGELE, R.; BORÉN, J.; GINSBERG, H.; ARCA, M. *et al.* Rare dyslipidaemias, from phenotype to genotype to management: a European Atherosclerosis Society task force consensus statement. **The lancet. Diabetes & endocrinology**, 8, n. 1, 2020.

HESS, A.; UNGER, L. The Cure of Infantile Rickets by Sunlight. **The American Journal of the Medical Sciences**, 163, n. 3, p. 453, 1921.

HINNEY, A.; HOCH, A.; GELLER, F.; SCHÄFER, H. *et al.* Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 87, n. 6, 2002.

HODSON, L. Hepatic fatty acid synthesis and partitioning: the effect of metabolic and nutritional state. **The Proceedings of the Nutrition Society**, 78, n. 1, 2019.

HOLICK, M. Vitamin D deficiency. **The New England journal of medicine**, 357, n. 3, 2007.

HOLICK, M.; MACLAUGHLIN, J.; CLARK, M.; HOLICK, S. *et al.* Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. **Science (New York, N.Y.)**, 210, n. 4466, 1980.

HOLICK, M.; MACLAUGHLIN, J.; DOPPELT, S. Regulation of cutaneous previtamin D3 photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. **Science (New York, N.Y.)**, 211, n. 4482, 1981.

HOLICK, M.; RICHTAND, N.; MCNEILL, S.; HOLICK, S. *et al.* Isolation and identification of previtamin D3 from the skin of rats exposed to ultraviolet irradiation. **Biochemistry**, 18, n. 6, 1979.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, 259, n. 5091, p. 87-91, 1993.

HRUSKA, K.; KORKOR, A.; MARTIN, K.; SLATOPOLSKY, E. Peripheral metabolism of intact parathyroid hormone. Role of liver and kidney and the effect of chronic renal failure. **The Journal of clinical investigation**, 67, n. 3, 1981.

HUANG, R.; SILVA, R.; JEROME, W.; KONTUSH, A. *et al.* Apolipoprotein A-I structural organization in high-density lipoproteins isolated from human plasma. **Nature structural & molecular biology**, 18, n. 4, 2011.

HUANG, R.; TIAN, S.; CAI, R.; SUN, J. *et al.* Ethnicity-Specific Association Between Ghrelin Leu72Met Polymorphism and Type 2 Diabetes Mellitus Susceptibility: An Updated Meta-Analysis. **Frontiers in genetics**, 9, 2018.

HULSHINSKY, K. Heilung von rachitis durch künstlich hohen-sonne. **Z. Orthopad.**, 45, p. 712–713, 1919.

HULSMANS, M.; VAN DOOREN, E.; HOLVOET, P. Mitochondrial reactive oxygen species and risk of atherosclerosis. **Current atherosclerosis reports**, 14, n. 3, 2012.

HUMMEL, K.; DICKIE, M.; COLEMAN, D. Diabetes, a new mutation in the mouse. **Science (New York, N.Y.)**, 153, n. 3740, 1966.

HUTCHINS, P.; RONSEIN, G.; MONETTE, J.; PAMIR, N. *et al.* Quantification of HDL particle concentration by calibrated ion mobility analysis. **Clinical chemistry**, 60, n. 11, 2014.

IGNAT, M.; VIX, M.; IMAD, I.; D'URSO, A. *et al.* Randomized trial of Roux-en-Y gastric bypass versus sleeve gastrectomy in achieving excess weight loss. **The British journal of surgery**, 104, n. 3, 2017.

IKRAMUDDIN, S.; BILLINGTON, C.; LEE, W.; BANTLE, J. *et al.* Roux-en-Y gastric bypass for diabetes (the Diabetes Surgery Study): 2-year outcomes of a 5-year, randomised, controlled trial. **The lancet. Diabetes & endocrinology**, 3, n. 6, 2015.

IMAIZUMI, T.; ANDO, M.; NAKATOCHI, M.; YASUDA, Y. *et al.* Effect of dietary energy and polymorphisms in BRAP and GHRL on obesity and metabolic traits. **Obesity research & clinical practice**, 12, n. Suppl 2, 2018.

INEU, M.; MANENTI, E.; DA COSTA, J.; MORIGUCHI, E. HDL management: recent advances and perspectives beyond LDL reduction. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 87, n. 6, 2006.

INGALLS, A.; DICKIE, M.; SNELL, G. Obese, a new mutation in the house mouse. **The Journal of heredity**, 41, n. 12, 1950.

INGERSOLL, A. Current Evidence-Based Treatment of Obesity. **The Nursing clinics of North America**, 56, n. 4, 2021.

IQBAL, J.; WU, H.; HU, N.; ZHOU, Y. *et al.* Effect of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on body weight in adults with obesity without diabetes mellitus—a systematic review and meta-analysis of randomized control trials. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 23, n. 6, 2022.

JACOBSON, T.; ITO, M.; MAKI, K.; ORRINGER, C. *et al.* National lipid association recommendations for patient-centered management of dyslipidemia: part 1--full report. **Journal of clinical lipidology**, 9, n. 2, 2015.

JAMAL, M.; WEGNER, R.; HEITSHUSEN, D.; LIAO, J. *et al.* Resolution of hyperlipidemia follows surgical weight loss in patients undergoing Roux-en-Y gastric bypass surgery: a 6-year analysis of data. **Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery**, 7, n. 4, 2011.

JEBARI-BENSLAIMAN, S.; GALICIA-GARCÍA, U.; LARREA-SEBAL, A.; OLAETXEA, J. *et al.* Pathophysiology of Atherosclerosis. **International journal of molecular sciences**, 23, n. 6, 2022.

JO, D.; KIM, S.; KIM, S.; HWANG, P. *et al.* Preproghrelin Leu72Met polymorphism in obese Korean children. **Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM**, 18, n. 11, 2005.

JONES, G.; PROSSER, D.; KAUFMANN, M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): its important role in the degradation of vitamin D. **Archives of biochemistry and biophysics**, 523, n. 1, 2012.

JOHN, S.; ANTONY, D.; EAASWARKHANTH, M.; HEBBAR, P. *et al.* Assessment of coding region variants in Kuwaiti population: implications for medical genetics and population genomics. **Scientific reports**, 8, n. 1, 2018.

JÜPPNER, H.; ABOU-SAMRA, A.; FREEMAN, M.; KONG, X. *et al.* A G protein-linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide. **Science (New York, N.Y.)**, 254, n. 5034, 1991.

KAMYCHEVA, E.; SUNDSFJORD, J.; JORDE, R. Serum parathyroid hormone level is associated with body mass index. The 5th Tromsø study. **European journal of endocrinology**, 151, n. 2, 2004.

KARCZEWSKI, K.; FRANCIOLI, L.; TIAO, G.; CUMMINGS, B. *et al.* The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. **Nature**, 581, n. 7809, 2020.

KAREFYLAKIS, C.; NÄSLUND, I.; EDHOLM, D.; SUNDBOM, M. *et al.* Vitamin D status 10 years after primary gastric bypass: gravely high prevalence of hypovitaminosis D and raised PTH levels. **Obesity surgery**, 24, n. 3, 2014.

KASER, S.; LAIMER, M.; SANDHOFER, A.; SALZMANN, K. *et al.* Effects of weight loss on PLTP activity and HDL particle size. **International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity**, 28, n. 10, 2004.

KATZMARZYK, P.; MALINA, R.; PÉRUSSE, L.; RICE, T. *et al.* Familial resemblance in fatness and fat distribution. **American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council**, 12, n. 3, 2000.

KEHDY, F.; GOUVEIA, M.; MACHADO, M.; MAGALHÃES, W. *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 112, n. 28, 2015.

KEHINDE, T.; BHATIA, A.; OLAREWAJU, B.; SHOAIB, M. *et al.* Syndromic obesity with neurodevelopmental delay: Opportunities for targeted interventions. **European journal of medical genetics**, 65, n. 3, 2022.

KERAMATI, A.; FATHZADEH, M.; GO, G.; SINGH, R. *et al.* A form of the metabolic syndrome associated with mutations in DYRK1B. **The New England journal of medicine**, 370, n. 20, 2014.

KHUNDMIRI, S.; MURRAY, R.; LEDERER, E. PTH and Vitamin D. **Comprehensive Physiology**, 6, n. 2, 2016.

KILPELÄINEN, T.; CARLI, J.; SKOWRONSKI, A.; SUN, Q. *et al.* Genome-wide meta-analysis uncovers novel loci influencing circulating leptin levels. **Nature communications**, 7, 2016.

KILPELÄINEN, T.; LAKKA, T.; LAAKSONEN, D.; MAGER, U. *et al.* Interaction of single nucleotide polymorphisms in ADRB2, ADRB3, TNF, IL6, IGF1R, LIPC, LEPR, and GHRL with physical activity on the risk of type 2 diabetes mellitus and changes in characteristics of the metabolic syndrome: The Finnish Diabetes Prevention Study. **Metabolism: clinical and experimental**, 57, n. 3, 2008.

KILPELÄINEN, T.; QI, L.; BRAGE, S.; SHARP, S. *et al.* Physical activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children. **PLoS medicine**, 8, n. 11, 2011.

KIM, J. Association between serum vitamin D, parathyroid hormone and metabolic syndrome in middle-aged and older Korean adults. **European journal of clinical nutrition**, 69, n. 4, 2015.

KIM, J.; KIM, W.; WOO, J.; LEE, T. *et al.* The Predictive Role of Serum Triglyceride to High-Density Lipoprotein Cholesterol Ratio According to Renal Function in Patients with Acute Myocardial Infarction. **PloS one**, 11, n. 10, 2016.

KIM, M.; FUJIKI, R.; KITAGAWA, H.; KATO, S. 1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ D $_3$ -induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene. **Molecular and cellular endocrinology**, 265-266, 2007.

KIM, S.; JO, D.; HWANG, P.; PARK, J. *et al.* Preproghrelin Leu72Met polymorphism is not associated with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism: clinical and experimental**, 55, n. 3, 2006.

KING, B. The rise, fall, and resurrection of the ventromedial hypothalamus in the regulation of feeding behavior and body weight. **Physiology & behavior**, 87, n. 2, 2006.

KIVIMÄKI, M.; KUOSMA, E.; FERRIE, J.; LUUKKONEN, R. *et al.* Overweight, obesity, and risk of cardiometabolic multimorbidity: pooled analysis of individual-level data for 120 813 adults from 16 cohort studies from the USA and Europe. **The Lancet. Public health**, 2, n. 6, 2017.

KLEIN, R.; ZEISS, C.; CHEW, E.; TSAI, J. *et al.* Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. **Science (New York, N.Y.)**, 308, n. 5720, 2005.

KOHNO, D.; GAO, H.; MUROYA, S.; KIKUYAMA, S. *et al.* Ghrelin directly interacts with neuropeptide-Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus: Ca<sup>2+</sup> signaling via protein kinase A and N-type channel-dependent mechanisms and cross-talk with leptin and orexin. **Diabetes**, 52, n. 4, 2003.

KONTUREK, S.; KONTUREK, J.; PAWLIK, T.; BRZOZOWSKI, T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, 55, n. 1 Pt 2, 2004.

KONWAR, M.; BOSE, D.; JAISWAL, S.; MAURYA, M. *et al.* Efficacy and Safety of Liraglutide 3.0 mg in Patients with Overweight and Obese with or without Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. **International journal of clinical practice**, 2022, 2022.

KORBONITS, M.; GUEORGUIEV, M.; O'GRADY, E.; LECOEUR, C. *et al.* A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 87, n. 8, 2002.

KREMER, R.; BOLIVAR, I.; GOLTZMAN, D.; HENDY, G. Influence of calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on proliferation and proto-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. **Endocrinology**, 125, n. 2, 1989.

KRZYZANOWSKA-SWINIARSKA, B.; KEMPA, A.; ROBACZYK, M. [Preproghrelin gene, ghrelin receptor and metabolic syndrome]. **Przegląd lekarski**, 62, n. 4, 2005.

KULL, M.; KALLIKORM, R.; LEMBER, M. Body mass index determines sunbathing habits: implications on vitamin D levels. **Internal medicine journal**, 39, n. 4, 2009.

KUROKAWA, N.; YOUNG, E. H.; OKA, Y.; SATOH, H. *et al.* The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. **International Journal of Obesity**, 32, n. 8, p. 1240-1249, 2008-06-24 2008.

KUZUYA, M.; ANDO, F.; IGUCHI, A.; SHIMOKATA, H. Preproghrelin Leu72Met variant contributes to overweight in middle-aged men of a Japanese large cohort. **International journal of obesity (2005)**, 30, n. 11, 2006.

LACATUSU, I.; BADEA, N.; STAN, R.; MEGHEA, A. Novel bio-active lipid nanocarriers for the stabilization and sustained release of sitosterol. **Nanotechnology**, 23, n. 45, 2012.

LANDGREN, S.; JERLHAG, E.; HALLMAN, J.; ORELAND, L. *et al.* Genetic variation of the ghrelin signaling system in females with severe alcohol dependence. **Alcoholism, clinical and experimental research**, 34, n. 9, 2010.

LANDRUM, M.; CHITIPIRALLA, S.; BROWN, G.; CHEN, C. *et al.* ClinVar: improvements to accessing data. **Nucleic acids research**, 48, n. D1, 2020.

LANDRUM, M.; LEE, J.; RILEY, G.; JANG, W. *et al.* ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. **Nucleic acids research**, 42, n. Database issue, 2014.

LANG, P.; ASPINALL, R. Vitamin D Status and the Host Resistance to Infections: What It Is Currently (Not) Understood. **Clinical therapeutics**, 39, n. 5, 2017.

LAPPEGÅRD, K.; KJELLMO, C.; HOVLAND, A. High-Density Lipoprotein Subfractions: Much Ado about Nothing or Clinically Important? **Biomedicines**, 9, n. 7, 2021.

LAUGSAND, E.; SKORPEN, F.; KAASA, S.; SABATOWSKI, R. *et al.* Genetic and Non-genetic Factors Associated With Constipation in Cancer Patients Receiving Opioids. **Clinical and translational gastroenterology**, 6, n. 6, 2015.

LAWRENCE, T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 1, n. 6, 2009.

LEE, D.; KIM, S.; JO, D.; HWANG, P. *et al.* Preproghrelin Leu72Met polymorphism predicts a lower rate of developing renal dysfunction in type 2 diabetic nephropathy. **European journal of endocrinology**, 155, n. 1, 2006.

LEE, K.; BROWN, D.; UREÑA, P.; ARDAILLOU, N. *et al.* Localization of parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor mRNA in kidney. **The American journal of physiology**, 270, n. 1 Pt 2, 1996.

LEE, Y.; KIM, J.; OSBORNE, O.; OH, D. *et al.* Increased adipocyte O<sub>2</sub> consumption triggers HIF-1 $\alpha$ , causing inflammation and insulin resistance in obesity. **Cell**, 157, n. 6, 2014.

LEGGIO, L.; FERRULLI, A.; CARDONE, S.; NESCI, A. *et al.* Ghrelin system in alcohol-dependent subjects: role of plasma ghrelin levels in alcohol drinking and craving. **Addiction biology**, 17, n. 2, 2012.

LEI, X.; RUAN, J.; LAI, C.; SUN, Z. *et al.* Efficacy and Safety of Phentermine/Topiramate in Adults with Overweight or Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 29, n. 6, 2021.

LEITERSDORF, E.; SAFADI, R.; MEINER, V.; RESHEF, A. *et al.* Cerebrotendinous xanthomatosis in the Israeli Druze: molecular genetics and phenotypic characteristics. **American journal of human genetics**, 55, n. 5, 1994.



- LERARIO, A. M.; MOHAN, D. R.; MONTENEGRO, L. R.; FUNARI, M. F. D. A. *et al.* SELAdb: A database of exonic variants in a Brazilian population referred to a quaternary medical center in São Paulo. **SELAdb: A database of exonic variants in a Brazilian population referred to a quaternary medical center in São Paulo**, 75, 2020.
- LESPESSAILLES, E.; TOUMI, H. Vitamin D alteration associated with obesity and bariatric surgery. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, 242, n. 10, 2017.
- LEVINSON, R.; SILVERMAN, J.; CATELLA, J.; RYBAK, I. *et al.* Pharmacotherapy prevention and management of nutritional deficiencies post Roux-en-Y gastric bypass. **Obesity surgery**, 23, n. 7, 2013.
- LI, X.; LIU, H.; QIN, L.; TAMASI, J. *et al.* Determination of dual effects of parathyroid hormone on skeletal gene expression in vivo by microarray and network analysis. **The Journal of biological chemistry**, 282, n. 45, 2007.
- LI, G.; ZHANG, K.; WANG, L.; CAO, C. *et al.* The preliminary investigation of orexigenic hormone gene polymorphisms on posttraumatic stress disorder symptoms. **Psychoneuroendocrinology**, 100, 2019.
- LINDEBERG, S.; NILSSON-EHLE, P.; TERÉNT, A.; VESSBY, B. *et al.* Cardiovascular risk factors in a Melanesian population apparently free from stroke and ischaemic heart disease: the Kitava study. **Journal of internal medicine**, 236, n. 3, 1994.
- LIU, J.; LIU, J.; TIAN, L.; LIU, J. *et al.* Association of ghrelin Leu72Met polymorphism with type 2 diabetes mellitus in Chinese population. **Gene**, 504, n. 2, 2012.
- LIU, R.; NIKOLAJCZYK, B. Tissue Immune Cells Fuel Obesity-Associated Inflammation in Adipose Tissue and Beyond. **Frontiers in immunology**, 10, 2019.
- LIU, Y.; JIA, S.; YUAN, D.; XU, N. *et al.* Apolipoprotein B/A-I Ratio Predicts Lesion Severity and Clinical Outcomes in Diabetic Patients With Acute Coronary Syndrome. **Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society**, 84, n. 7, 2020.
- LOCKE, A.; KAHALI, B.; BERNDT, S.; JUSTICE, A. *et al.* Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. **Nature**, 518, n. 7538, 2015.
- LOOS, R. J. F. 15 years of genome-wide association studies and no signs of slowing down. **Nature Communications**, 11, n. 1, p. 1-3, 2020.
- LOTTA, L.; MOKROSIŃSKI, J.; MENDES DE OLIVEIRA, E.; LI, C. *et al.* Human Gain-of-Function MC4R Variants Show Signaling Bias and Protect against Obesity. **Cell**, 177, n. 3, 2019.
- LU, C.; CHANG, Y.; CHANG, H.; KUO, C. *et al.* Fracture Risk After Bariatric Surgery: A 12-Year Nationwide Cohort Study. **Medicine**, 94, n. 48, 2015.

LU, Y.; DAY, F.; GUSTAFSSON, S.; BUCHKOVICH, M. *et al.* New loci for body fat percentage reveal link between adiposity and cardiometabolic disease risk. **Nature communications**, 7, 2016.

LUBRANO-BERTHELIER, C.; DUBERN, B.; LACORTE, J.; PICARD, F. *et al.* Melanocortin 4 receptor mutations in a large cohort of severely obese adults: prevalence, functional classification, genotype-phenotype relationship, and lack of association with binge eating. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 91, n. 5, 2006.

LUSCINSKAS, F.; GIMBRONE, M. Endothelial-dependent mechanisms in chronic inflammatory leukocyte recruitment. **Annual review of medicine**, 47, 1996.

MACLAUGHLIN, J.; HOLICK, M. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. **The Journal of clinical investigation**, 76, n. 4, 1985.

MAEDA, S.; BORBA, V.; CAMARGO, M.; SILVA, D. *et al.* Recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabology (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, 58, n. 5, 2014.

MAGGIONI, A.; CATERSON, I.; COUTINHO, W.; FINER, N. *et al.* Tolerability of sibutramine during a 6-week treatment period in high-risk patients with cardiovascular disease and/or diabetes: a preliminary analysis of the Sibutramine Cardiovascular Outcomes (SCOUT) Trial. **Journal of cardiovascular pharmacology**, 52, n. 5, 2008.

MAHMOUDI, T.; MAJIDZADEH-A, K.; KARIMI, K.; FARAHANI, H. *et al.* Gly972Arg variant of insulin receptor substrate 1 gene and colorectal cancer risk in overweight/obese subjects. **The International journal of biological markers**, 31, n. 1, 2016.

MANSBACH, J.; GINDE, A.; CAMARGO, C. Serum 25-hydroxyvitamin D levels among US children aged 1 to 11 years: do children need more vitamin D? **Pediatrics**, 124, n. 5, 2009.

MAYORAL, L.; ANDRADE, G.; MAYORAL, E.; HUERTA, T. *et al.* Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **The Indian journal of medical research**, 151, n. 1, 2020.

MBALILAKI, J.; MASESA, Z.; STRØMME, S.; HØSTMARK, A. *et al.* Daily energy expenditure and cardiovascular risk in Masai, rural and urban Bantu Tanzanians. **British journal of sports medicine**, 44, n. 2, 2010.

MCSHEEHY, P.; CHAMBERS, T. Osteoblastic cells mediate osteoclastic responsiveness to parathyroid hormone. **Endocrinology**, 118, n. 2, 1986.

MECHANICK, J.; YOUDIM, A.; JONES, D.; GARVEY, W. *et al.* Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the

bariatric surgery patient--2013 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists, the Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery. **Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, 19, n. 2, 2013.

MELLANBY, E. An experimental investigation on rickets. **Lancet**, 1, p. 407–412, 1919.

MIEDLICH, S.; ABOU-SAMRA, A. Eliminating phosphorylation sites of the parathyroid hormone receptor type 1 differentially affects stimulation of phospholipase C and receptor internalization. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, 295, n. 3, 2008.

MILLS, R.; LUTTIG, C.; LARKINS, C.; BEAUCHAMP, A. *et al.* An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. **Genome research**, 16, n. 9, 2006.

MILLÁN, J.; PINTÓ, X.; MUÑOZ, A.; ZÚÑIGA, M. *et al.* Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. **Vascular health and risk management**, 5, 2009.

MINGRONE, G.; BORNSTEIN, S.; LE ROUX, C. Optimisation of follow-up after metabolic surgery. **The lancet. Diabetes & endocrinology**, 6, n. 6, 2018.

MINGRONE, G.; PANUNZI, S.; DE GAETANO, A.; GUIDONE, C. *et al.* Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. **Lancet (London, England)**, 386, n. 9997, 2015.

Ministério da Saúde. **Portaria do Ministério da Saúde nº 424, de 19 de março de 2013. Diretrizes para a organização da prevenção e do tratamento do sobrepeso e obesidade.**, 2013. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt0424\\_19\\_03\\_2013.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt0424_19_03_2013.html). Acesso em: 23/08/2023.

MINOKOSHI, Y.; ALQUIER, T.; FURUKAWA, N.; KIM, Y. *et al.* AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. **Nature**, 428, n. 6982, 2004.

MINTEER, D.; MARRA, K. G.; RUBIN, J. P. Adipose-derived mesenchymal stem cells: biology and potential applications. **Adv Biochem Eng Biotechnol**, 129, p. 59-71, 2013.

MIYASAKA, K.; HOSOYA, H.; SEKIME, A.; OHTA, M. *et al.* Association of ghrelin receptor gene polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population. **Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)**, 113, n. 9, 2006.

MOHAPATRA, S.; GANGADHARAN, K.; PITCHUMONI, C. Malnutrition in obesity before and after bariatric surgery. **Disease-a-month : DM**, 66, n. 2, 2020.

MONNIER, L.; SCHLIENGER, J.; COLETTE, C.; BONNET, F. The obesity treatment dilemma: Why dieting is both the answer and the problem? A mechanistic overview. **Diabetes & metabolism**, 47, n. 3, 2021.

MONIUSZKO, A.; WAWRUSIEWICZ-KURLONEK, N.; BOSSOWSKA, A.; GOŚCIK, J. *et al.* The association between rs4684677 T/A polymorphism in preproghrelin gene and predisposition to autoimmune thyroid diseases in children. **Autoimmunity**, 48, n. 6, 2015.

MONTAGUE, C.; FAROOQI, I.; WHITEHEAD, J.; SOOS, M. *et al.* Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. **Nature**, 387, n. 6636, 1997.

MONTELEONE, P.; TORTORELLA, A.; CASTALDO, E.; DI FILIPPO, C. *et al.* No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene with anorexia nervosa or bulimia nervosa. **Neuroscience letters**, 398, n. 3, 2006.

MOORE, K.; FREEMAN, M. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 26, n. 8, 2006.

MORA, M.; ADAM, V.; PALOMERA, E.; BLESÁ, S. *et al.* Ghrelin Gene Variants Influence on Metabolic Syndrome Components in Aged Spanish Population. **PloS one**, 10, n. 9, 2015.

MORA, M.; MANSEGO, M.; SERRA-PRAT, M.; PALOMERA, E. *et al.* Glucose impairment and ghrelin gene variants are associated to cognitive dysfunction. **Aging clinical and experimental research**, 26, n. 2, 2014.

MOREIRA, C.; FERREIRA, C.; MADEIRA, M.; SILVA, B. *et al.* Reference values of 25-hydroxyvitamin D revisited: a position statement from the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine (SBPC). **Archives of endocrinology and metabolism**, 64, n. 4, 2020.

MORI, H.; HANADA, R.; HANADA, T.; AKI, D. *et al.* Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. **Nature medicine**, 10, n. 7, 2004.

MORIYAMA, K.; NEGAMI, M.; TAKAHASHI, E. HDL2-cholesterol/HDL3-cholesterol ratio was associated with insulin resistance, high-molecular-weight adiponectin, and components for metabolic syndrome in Japanese. **Diabetes research and clinical practice**, 106, n. 2, 2014.

MORTON, G.; CUMMINGS, D.; BASKIN, D.; BARSH, G. *et al.* Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, 443, n. 7109, 2006.

MURANO, I.; BARBATELLI, G.; PARISANI, V.; LATINI, C. *et al.* Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. **Journal of lipid research**, 49, n. 7, 2008.

MUSA, C.; MANCINI, A.; ALFIERI, A.; LABRUNA, G. *et al.* Four novel UCP3 gene variants associated with childhood obesity: effect on fatty acid oxidation and on prevention of triglyceride storage. **International journal of obesity (2005)**, 36, n. 2, 2012.

MUSUNURU, K.; ORHO-MELANDER, M.; CAULFIELD, M.; LI, S. *et al.* Ion mobility analysis of lipoprotein subfractions identifies three independent axes of cardiovascular risk. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 29, n. 11, 2009.

NASLAVSKY, M. S.; SCLIAR, M. O.; YAMAMOTO, G. L.; WANG, J. Y. T. *et al.* Whole-genome sequencing of 1,171 elderly admixed individuals from the largest Latin American metropolis (São Paulo, Brazil). 2020.

NAYLOR, S.; SAKAGUCHI, A.; SZOKA, P.; HENDY, G. *et al.* Human parathyroid hormone gene (PTH) is on short arm of chromosome 11. **Somatic cell genetics**, 9, n. 5, 1983.

NCBI. **FASTA Format for Nucleotide Sequences**. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/fastaformat/>. Acesso em: 14/11/2023.

NCD-RISC, N. R. F. C. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. **Lancet (London, England)**, 387, n. 10026, 2016.

NEEL, J.; SALZANO, F. Further studies on the Xavante Indians. X. Some hypotheses-generalizations resulting from these studies. **American journal of human genetics**, 19, n. 4, 1967.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. São Paulo: Artmed: 2014.

NG, C.; FONG, L.; LOW, Y.; BAN, J. *et al.* Nitric oxide participates in IFN-gamma-induced HUVECs hyperpermeability. **Physiological research**, 65, n. 6, 2016.

NIH, N. I. O. H. **ATP III At-A-Glance: Quick Desk Reference - NHLBI, NIH**. 2001. Disponível em: <https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/atglance.pdf>. Acesso em: 24/08/2023.

NIKKILA, E. Studies on the lipid-protein relationship in normal and pathological sera and the effect of heparin on serum lipoproteins. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, 5 Suppl. 8, 1953.

NIROULA, A.; UROLAGIN, S.; VIHINEN, M. PON-P2: prediction method for fast and reliable identification of harmful variants. **PloS one**, 10, n. 2, 2015.

NIU, J.; KOLATTUKUDY, P. Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. **Clinical science (London, England : 1979)**, 117, n. 3, 2009.

NOSSO, G.; GRIFFO, E.; COTUGNO, M.; SALDALAMACCHIA, G. *et al.* Comparative Effects of Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy on Glucose Homeostasis and Incretin Hormones in Obese Type 2 Diabetic Patients: A One-Year Prospective Study. **Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme**, 48, n. 5, 2016.

NYATI, K.; MASUDA, K.; ZAMAN, M.; DUBEY, P. *et al.* TLR4-induced NF- $\kappa$ B and MAPK signaling regulate the IL-6 mRNA stabilizing protein Arid5a. **Nucleic acids research**, 45, n. 5, 2017.

OLAMOYEGUN, M.; OLUYOMBO, R.; ASAOLU, S. Evaluation of dyslipidemia, lipid ratios, and atherogenic index as cardiovascular risk factors among semi-urban dwellers in Nigeria. **Annals of African medicine**, 15, n. 4, 2016.

ORTHOFFER, M.; VALSESIA, A.; MÄGI, R.; WANG, Q. *et al.* Identification of ALK in Thinness. **Cell**, 181, n. 6, 2020.

OSTO, E.; DOYTCHEVA, P.; CORTEVILLE, C.; BUETER, M. *et al.* Rapid and body weight-independent improvement of endothelial and high-density lipoprotein function after Roux-en-Y gastric bypass: role of glucagon-like peptide-1. **Circulation**, 131, n. 10, 2015.

OUCHI, N.; PARKER, J. L.; LUGUS, J. J.; WALSH, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nat Rev Immunol**, 11, n. 2, p. 85-97, 2011.

PABALAN, N.; SEIM, I.; JARJANAZI, H.; CHOPIN, L. Associations between ghrelin and ghrelin receptor polymorphisms and cancer in Caucasian populations: a meta-analysis. **BMC genetics**, 15, 2014.

PAN, W.; MYERS, M. Leptin and the maintenance of elevated body weight. **Nature reviews. Neuroscience**, 19, n. 2, 2018.

PANTALONE, K.; HOBBS, T.; CHAGIN, K.; KONG, S. *et al.* Prevalence and recognition of obesity and its associated comorbidities: cross-sectional analysis of electronic health record data from a large US integrated health system. **BMJ open**, 7, n. 11, 2017.

PARDINA, E.; BAENA-FUSTEGUERAS, J.; CATALÁN, R.; GALARD, R. *et al.* Increased expression and activity of hepatic lipase in the liver of morbidly obese adult patients in relation to lipid content. **Obesity surgery**, 19, n. 7, 2009.

PAYNE, R.; LITTLE, A.; WILLIAMS, R.; MILNER, J. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. **British medical journal**, 4, n. 5893, 1973.

PEKTAS, S.; CINAR, N.; DUMAN, D.; KARA, A. *et al.* The relationship among androgens, insulin resistance and ghrelin polymorphisms in post-adolescent male patients with severe acne vulgaris. **Postepy dermatologii i alergologii**, 37, n. 5, 2020.

PERKINS, N. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. **Nature reviews. Molecular cell biology**, 8, n. 1, 2007.

PETASNE, N. M.; CAMPA, A.; SAMIRI, N., S; SOSA, J. Comprehensive behavioral-motivational nutrition education improves depressive symptoms following bariatric surgery: a randomized, controlled trial of obese Hispanic Americans. **Journal of nutrition education and behavior**, 45, n. 6, 2013.

PHELAN, S.; BURGESS, D.; YEAZEL, M.; HELLERSTEDT, W. *et al.* Impact of weight bias and stigma on quality of care and outcomes for patients with obesity. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 16, n. 4, 2015.

PICHÉ, M.; AUCLAIR, A.; HARVEY, J.; MARCEAU, S. *et al.* How to choose and use bariatric surgery in 2015. **The Canadian journal of cardiology**, 31, n. 2, 2015.

POIRIER, P.; CORNIER, M.; MAZZONE, T.; STILES, S. *et al.* Bariatric surgery and cardiovascular risk factors: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, 123, n. 15, 2011.

PONTZER, H.; WOOD, B.; RAICHLIN, D. Hunter-gatherers as models in public health. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 19 Suppl 1, 2018.

POPEJOY, A.; FULLERTON, S. Genomics is failing on diversity. **Nature**, 538, n. 7624, 2016.

POWNALL, H.; ROSALES, C.; GILLARD, B.; GOTTO, A. High-density lipoproteins, reverse cholesterol transport and atherogenesis. **Nature reviews. Cardiology**, 18, n. 10, 2021.

PRABHU, A.; LUU, W.; LI, D.; SHARPE, L. *et al.* DHCR7: A vital enzyme switch between cholesterol and vitamin D production. **Progress in lipid research**, 64, 2016.

PULKKINEN, L.; UKKOLA, O.; KOLEHMAINEN, M.; UUSITUPA, M. Ghrelin in diabetes and metabolic syndrome. **International journal of peptides**, 2010.

PURI, R.; NISSEN, S.; SHAO, M.; ELSHAZLY, M. *et al.* Non-HDL Cholesterol and Triglycerides: Implications for Coronary Atheroma Progression and Clinical Events. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 36, n. 11, 2016.

PUZZIFERRI, N.; AUSTRHEIM-SMITH, I.; WOLFE, B.; WILSON, S. *et al.* Three-year follow-up of a prospective randomized trial comparing laparoscopic versus open gastric bypass. **Annals of surgery**, 243, n. 2, 2006.

PÉREZ DE HEREDIA, F.; SÁNCHEZ, J.; PRIEGO, T.; LARQUÉ, E. *et al.* Adiponectin is associated with serum and adipose tissue fatty acid composition in rats. **Journal of endocrinological investigation**, 32, n. 8, 2009.

PÉREZ-PALMA, E.; MAY, P.; IQBAL, S.; NIESTROJ, L. *et al.* Identification of pathogenic variant enriched regions across genes and gene families. **Genome research**, 30, n. 1, 2020.

QI, Q.; CHU, A.; KANG, J.; HUANG, J. *et al.* Fried food consumption, genetic risk, and body mass index: gene-diet interaction analysis in three US cohort studies. **BMJ (Clinical research ed.)**, 348, 2014.

RAMOS SALAS, X.; ALBERGA, A.; CAMERON, E.; ESTEY, L. *et al.* Addressing weight bias and discrimination: moving beyond raising awareness to creating change. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 18, n. 11, 2017.

RANKINEN, T.; ZUBERI, A.; CHAGNON, Y.; WEISNAGEL, S. *et al.* The human obesity gene map: the 2005 update. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 14, n. 4, 2006.

RASHID, S.; GENEST, J. Effect of obesity on high-density lipoprotein metabolism. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 15, n. 12, 2007.

RASK-ANDERSEN, M.; KARLSSON, T.; EK, W.; JOHANSSON, Å. Gene-environment interaction study for BMI reveals interactions between genetic factors and physical activity, alcohol consumption and socioeconomic status. **PLoS genetics**, 13, n. 9, 2017.

RAY, S.; TALUKDAR, A.; SONTHALIA, N.; SAHA, M. *et al.* Serum lipoprotein ratios as markers of insulin resistance: a study among non-diabetic acute coronary syndrome patients with impaired fasting glucose. **The Indian journal of medical research**, 141, n. 1, 2015.

REBELOS, E.; MORICONI, D.; SCALESE, M.; DENOTH, F. *et al.* Impact of Postprandial Hypoglycemia on Weight Loss After Bariatric Surgery. **Obesity surgery**, 30, n. 6, 2020.

REID, I.; AVENELL, A. Evidence-based policy on dietary calcium and vitamin D. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, 26, n. 3, 2011.

REIS, J.; VON MÜHLEN, D.; MILLER, E. Relation of 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels with metabolic syndrome among US adults. **European journal of endocrinology**, 159, n. 1, 2008.

RICHARDS, S.; AZIZ, N.; BALE, S.; BICK, D. *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics**, 17, n. 5, 2015.

RIVEROS-MCKAY, F.; MISTRY, V.; BOUNDS, R.; HENDRICKS, A. *et al.* Genetic architecture of human thinness compared to severe obesity. **PLoS genetics**, 15, n. 1, 2019.



RIVERA-LEÓN, E.; LLAMAS-COVARRUBIAS, M.; SÁNCHEZ-ENRÍQUEZ, S.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, E. *et al.* Leu72Met polymorphism of GHRL gene decreases susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Mexican population. **BMC endocrine disorders**, 20, n. 1, 2020.

ROBINS, S.; LYASS, A.; ZACHARIAH, J.; MASSARO, J. *et al.* Insulin resistance and the relationship of a dyslipidemia to coronary heart disease: the Framingham Heart Study. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 31, n. 5, 2011.

ROHATGI, A.; WESTERTERP, M.; VON ECKARDSTEIN, A.; REMALEY, A. *et al.* HDL in the 21st Century: A Multifunctional Roadmap for Future HDL Research. **Circulation**, 143, n. 23, 2021.

ROIZEN, J.; LONG, C.; CASELLA, A.; O'LEAR, L. *et al.* Obesity Decreases Hepatic 25-Hydroxylase Activity Causing Low Serum 25-Hydroxyvitamin D. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, 34, n. 6, 2019.

ROSENWALD, M.; PERDIKARI, A.; RÜLICHE, T.; WOLFRUM, C. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. **Nature cell biology**, 15, n. 6, 2013.

ROSS, A. C.; TAYLOR, C. L.; YAKTINE, A. L.; VALLE, H. B. D. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. 2011.

RUBIN, E.; KRAUSS, R.; SPANGLER, E.; VERSTUYFT, J. *et al.* Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein AI. **Nature**, 353, n. 6341, 1991.

RUSSELL, J.; LETTIERI, D.; SHERWOOD, L. Suppression by 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> of transcription of the pre-proparathyroid hormone gene. **Endocrinology**, 119, n. 6, 1986.

RUSSO, F.; CHIMIANTI, G.; LINSALATA, M.; CLEMENTE, C. *et al.* The obestatin/ghrelin ratio and ghrelin genetics in adult celiac patients before and after a gluten-free diet, in irritable bowel syndrome patients and healthy individuals. **European journal of gastroenterology & hepatology**, 29, n. 2, 2017.

RYE, K.; BARTER, P. Formation and metabolism of prebeta-migrating, lipid-poor apolipoprotein A-I. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 24, n. 3, 2004.

RYE, K.; BARTER, P. Regulation of high-density lipoprotein metabolism. **Circulation research**, 114, n. 1, 2014.

RYU, S.; HUH, I.; CHO, E.; CHO, Y. *et al.* Association Study of 60 Candidate Genes with Antipsychotic-induced Weight Gain in Schizophrenia Patients. **Pharmacopsychiatry**, 49, n. 2, 2016.

SAAD, R.; GHEZZAWI, M.; HABLI, D.; ALAMI, R. *et al.* Fracture risk following bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, 33, n. 3, 2022.

SAEED, S.; ARSLAN, M.; FROGUEL, P. Genetics of Obesity in Consanguineous Populations: Toward Precision Medicine and the Discovery of Novel Obesity Genes. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 26, n. 3, 2018.

SAEED, S.; ARSLAN, M.; MANZOOR, J.; DIN, S. *et al.* Genetic Causes of Severe Childhood Obesity: A Remarkably High Prevalence in an Inbred Population of Pakistan. **Diabetes**, 69, n. 7, 2020.

SAEED, S.; BONNEFOND, A.; MANZOOR, J.; SHABBIR, F. *et al.* Genetic variants in LEP, LEPR, and MC4R explain 30% of severe obesity in children from a consanguineous population. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 23, n. 8, 2015.

SAHEBKAR, A.; SIMENTAL-MENDÍA, L.; REINER, Ž.; KOVANEN, P. *et al.* Effect of orlistat on plasma lipids and body weight: A systematic review and meta-analysis of 33 randomized controlled trials. **Pharmacological research**, 122, 2017.

SALIBA, L.; REIS, R.; BROWNSON, R.; HINO, A. *et al.* Obesity-related gene ADRB2, ADRB3 and GHRL polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women. **Genetics and molecular biology**, 37, n. 1, 2014.

SAMUEL, L.; BORRELL, L. The effect of body mass index on adequacy of serum 25-hydroxyvitamin D levels in US adults: the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2006. **Annals of epidemiology**, 24, n. 10, 2014.

SANDOVAL, D.; COTA, D.; SEELEY, R. The integrative role of CNS fuel-sensing mechanisms in energy balance and glucose regulation. **Annual review of physiology**, 70, 2008.

SANDRINI, L.; DI MINNO, A.; AMADIO, P.; IERACI, A. *et al.* Association between Obesity and Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels: Systematic Review of Literature and Meta-Analysis. **International journal of molecular sciences**, 19, n. 8, 2018.

SANTOS, J.; AMADOR, P.; VALLADARES, M.; ALBALA, C. *et al.* Obesity and eating behaviour in a three-generation Chilean family with carriers of the Thr150Ile mutation in the melanocortin-4 receptor gene. **Journal of physiology and biochemistry**, 64, n. 3, 2008.

SARMENTO-CABRAL, A.; PEINADO, J.; HALLIDAY, L.; MALAGON, M. *et al.* Adipokines (Leptin, Adiponectin, Resistin) Differentially Regulate All Hormonal Cell Types in Primary Anterior Pituitary Cell Cultures from Two Primate Species. **Scientific reports**, 7, 2017.

SCHAUER, P.; BHATT, D.; KIRWAN, J.; WOLSKI, K. *et al.* Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. **The New England journal of medicine**, 376, n. 7, 2017.

SCHAUER, P.; KASHYAP, S.; WOLSKI, K.; BRETHAUER, S. *et al.* Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. **The New England journal of medicine**, 366, n. 17, 2012.

SCHIAVON, C.; BERSCH-FERREIRA, A.; SANTUCCI, E.; OLIVEIRA, J. *et al.* Effects of Bariatric Surgery in Obese Patients With Hypertension: The GATEWAY Randomized Trial (Gastric Bypass to Treat Obese Patients With Steady Hypertension). **Circulation**, 137, n. 11, 2018.

SCHMITZ, J.; EVERS, N.; AWAZAWA, M.; NICHOLLS, H. *et al.* Obesogenic memory can confer long-term increases in adipose tissue but not liver inflammation and insulin resistance after weight loss. **Molecular metabolism**, 5, n. 5, 2016.

SCHWARTZ, M.; WOODS, S.; SEELEY, R.; BARSH, G. *et al.* Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? **Diabetes**, 52, n. 2, 2003.

SCUTERI, A.; SANNA, S.; CHEN, W.; UDA, M. *et al.* Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. **PLoS genetics**, 3, n. 7, 2007.

SERRA-JUHÉ, C.; MARTOS-MORENO, G.; BOU DE PIERI, F.; FLORES, R. *et al.* Heterozygous rare genetic variants in non-syndromic early-onset obesity. **International journal of obesity (2005)**, 44, n. 4, 2020.

SEVER, S.; WHITE, D.; GARCIA, J. Is there an effect of ghrelin/ghrelin analogs on cancer? A systematic review. **Endocrine-related cancer**, 23, n. 9, 2016.

SHAH, A.; TAN, L.; LONG, J.; DAVIDSON, W. Proteomic diversity of high density lipoproteins: our emerging understanding of its importance in lipid transport and beyond. **Journal of lipid research**, 54, n. 10, 2013.

SHARMA, N.; CHACKO, J.; VELPANDIAN, T.; TITIYAL, J. S. *et al.* Comparative evaluation of topical versus intrastromal voriconazole as an adjunct to natamycin in recalcitrant fungal keratitis. **Ophthalmology**, 120, n. 4, p. 677-681, 2013.

SHARPLES, A.; MAHAWAR, K. Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials Comparing Long-Term Outcomes of Roux-En-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy. **Obesity surgery**, 30, n. 2, 2020.

SHERRY, S.; WARD, M.; KHOLODOV, M.; BAKER, J. *et al.* dbSNP: the NCBI database of genetic variation. **Nucleic acids research**, 29, n. 1, 2001.

SHI, X.; GUAN, K.; PENG, X.; XU, B. *et al.* Ghrelin modulates dopaminergic neuron formation and attention deficit hyperactivity disorder-like behaviors: From animals to human models. **Brain, behavior, and immunity**, 94, 2021.

SHINKI, T.; SHIMADA, H.; WAKINO, S.; ANAZAWA, H. *et al.* Cloning and expression of rat 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase cDNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 94, n. 24, 1997.

SHUGART, Y.; CHEN, L.; DAY, I.; LEWIS, S. *et al.* Two British women studies replicated the association between the Val66Met polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and BMI. **European journal of human genetics : EJHG**, 17, n. 8, 2009.

SILVER, J.; LEVI, R. Regulation of PTH synthesis and secretion relevant to the management of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. **Kidney international. Supplement**, n. 95, 2005.

SIM, N.-L.; KUMAR, P.; HU, J.; HENIKOFF, S. *et al.* SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. **Nucleic Acids Research**, 40, n. W1, p. W452–W457, 2012.

SINGH, R.; KUMAR, P.; MAHALINGAM, K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. **Comptes rendus biologies**, 340, n. 2, 2017.

SJÖSTRÖM, L.; LINDROOS, A.; PELTONEN, M.; TORGERSON, J. *et al.* Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. **The New England journal of medicine**, 351, n. 26, 2004.

SMITH, K.; SMITH, M. Obesity Statistics. **Primary care**, 43, n. 1, 2016.

SOLEYMAN-JAHI, S.; SADEGHI, F.; PASTAKI KHOSHBIN, A.; KHANI, L. *et al.* Attribution of Ghrelin to Cancer; Attempts to Unravel an Apparent Controversy. **Frontiers in oncology**, 9, 2019.

SPEAKMAN, J. Evolutionary perspectives on the obesity epidemic: adaptive, maladaptive, and neutral viewpoints. **Annual review of nutrition**, 33, 2013.

SPENCER, S.; MILLER, A.; ANDREWS, Z. The role of ghrelin in neuroprotection after ischemic brain injury. **Brain sciences**, 3, n. 1, 2013.

SPIEGELMAN, B.; FLIER, J. Obesity and the regulation of energy balance. **Cell**, 104, n. 4, 2001.

SRIKAKULAPU, P.; MCNAMARA, C. B Lymphocytes and Adipose Tissue Inflammation. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, 40, n. 5, 2020.

SRIVASTAVA, N. ATP binding cassette transporter A1--key roles in cellular lipid transport and atherosclerosis. **Molecular and cellular biochemistry**, 237, n. 1-2, 2002.

ST-ARNAUD, R.; MESSERLIAN, S.; MOIR, J.; OMDAHL, J. *et al.* The 25-hydroxyvitamin D 1-alpha-hydroxylase gene maps to the pseudovitamin D-deficiency rickets (PDDR) disease locus. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, 12, n. 10, 1997.

STADLER, J.; LACKNER, S.; MÖRKL, S.; TRAKAKI, A. *et al.* Obesity Affects HDL Metabolism, Composition and Subclass Distribution. **Biomedicines**, 9, n. 3, 2021.

STEENACKERS, N.; VAN DER SCHUEREN, B.; AUGUSTIJNS, P.; VANUYTSEL, T. *et al.* Development and complications of nutritional deficiencies after bariatric surgery. **Nutrition research reviews**, 2022.

STEINLE, N. I.; POLLIN, T. I.; O'CONNELL, J. R.; MITCHELL, B. D. *et al.* Variants in the Ghrelin Gene Are Associated with Metabolic Syndrome in the Old Order Amish. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 90, n. 12, p. 6672-6677, 2005.

STRYJECKI, C.; ALYASS, A.; MEYRE, D. Ethnic and population differences in the genetic predisposition to human obesity. **Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity**, 19, n. 1, 2018.

STUNKARD, A.; HARRIS, J.; PEDERSEN, N.; MCCLEARN, G. The body-mass index of twins who have been reared apart. **The New England journal of medicine**, 322, n. 21, 1990.

STUNKARD, A.; SØRENSEN, T.; HANIS, C.; TEASDALE, T. *et al.* An adoption study of human obesity. **The New England journal of medicine**, 314, n. 4, 1986.

STUNKARD, A. J.; FOCH, T. T.; HRUBEC, Z. A Twin Study of Human Obesity. **JAMA**, 256, n. 1, p. 51-54, 1986.

STUTZMANN, F.; TAN, K.; VATIN, V.; DINA, C. *et al.* Prevalence of melanocortin-4 receptor deficiency in Europeans and their age-dependent penetrance in multigenerational pedigrees. **Diabetes**, 57, n. 9, 2008.

SU, M.; CAO, T.; FENG, Y.; GUO, Q. *et al.* Longitudinal changes of associations between the preproghrelin Leu72Met polymorphism with depression in Chinese Han adolescents after the Wenchuan earthquake. **Psychiatric genetics**, 27, n. 5, 2017.

SU, M.; QIU, L.; WANG, Q.; JIANG, Z. *et al.* Associations of Leu72Met Polymorphism of Preproghrelin with Ratios of Plasma Lipids Are Diversified by a High-Carbohydrate Diet in Healthy Chinese Adolescents. **Annals of nutrition & metabolism**, 67, n. 4, 2015.

SUCHANKOVA, P.; JERLHAG, E.; JAYARAM-LINDSTRÖM, N.; NILSSON, S. *et al.* Genetic variation of the ghrelin signalling system in individuals with amphetamine dependence. **PloS one**, 8, n. 4, 2013.

SUCHANKOVA, P.; NILSSON, S.; VON DER PAHLEN, B.; SANTTILA, P. *et al.* Genetic variation of the growth hormone secretagogue receptor gene is associated with alcohol use disorders identification test scores and smoking. **Addiction biology**, 21, n. 2, 2016.

SUCHANKOVA, P.; YAN, J.; SCHWANDT, M.; STANGL, B. *et al.* The Leu72Met Polymorphism of the Prepro-ghrelin Gene is Associated With Alcohol Consumption and Subjective Responses to Alcohol: Preliminary Findings. **Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)**, 52, n. 4, 2017.

SZCZEPANKIEWICZ, A.; BREBOROWICZ, A.; SOBKOWIAK, P.; POPIEL, A. Are genes associated with energy metabolism important in asthma and BMI? **The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma**, 46, n. 1, 2009.

SUN, Q.; CORNELIS, M.; KRAFT, P.; QI, L. *et al.* Genome-wide association study identifies polymorphisms in LEPR as determinants of plasma soluble leptin receptor levels. **Human molecular genetics**, 19, n. 9, 2010.

SWEETNAM, P.; BOLTON, C.; YARNELL, J.; BAINTON, D. *et al.* Associations of the HDL2 and HDL3 cholesterol subfractions with the development of ischemic heart disease in British men. The Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Studies. **Circulation**, 90, n. 2, 1994.

SWINBURN, B.; SACKS, G.; HALL, K.; MCPHERSON, K. *et al.* The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. **Lancet (London, England)**, 378, n. 9793, 2011.

SYN, N.; CUMMINGS, D.; WANG, L.; LIN, D. *et al.* Association of metabolic-bariatric surgery with long-term survival in adults with and without diabetes: a one-stage meta-analysis of matched cohort and prospective controlled studies with 174 772 participants. **Lancet (London, England)**, 397, n. 10287, 2021.

SYN, N.; LEE, P.; KOVALIK, J.; THAM, K. *et al.* Associations of Bariatric Interventions With Micronutrient and Endocrine Disturbances. **JAMA network open**, 3, n. 6, 2020.

TAKEYAMA, K.; KITANAKA, S.; SATO, T.; KOBORI, M. *et al.* 25-Hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase and vitamin D synthesis. **Science (New York, N.Y.)**, 277, n. 5333, 1997.

TAKEZAWA, J.; YAMADA, K.; MIYACHI, M.; MORITA, A. *et al.* Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese women. Minor homozygotes are light eaters, do not prefer protein or fat, and apparently have a poor appetite. **Appetite**, 63, 2013.

TAKEZAWA, J.; YAMADA, K.; MORITA, A.; AIBA, N. *et al.* Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese: Association with diabetes mellitus in men and with metabolic syndrome parameters in women. **Obesity research & clinical practice**, 3, n. 4, 2009.

TANAKA, M.; TAKAHASHI, Y.; UMEMORI, Y.; ASANUMA, K. *et al.* [The Study of a New Formula for Correcting Serum Calcium Levels, Considering the Difference in Albumin Analysis Methods]. **Rinsho byori. The Japanese journal of clinical pathology**, 64, n. 6, 2016.

TANG, H.; THOMAS, P. PANTHER-PSEP: predicting disease-causing genetic variants using position-specific evolutionary preservation. **Bioinformatics (Oxford, England)**, 32, n. 14, 2016.

TANG, N.; WANG, L.; YANG, L.; GU, H. *et al.* Preproghrelin Leu72Met polymorphism in Chinese subjects with coronary artery disease and controls. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, 387, n. 1-2, 2008.

TARGHER, G.; BERTOLINI, L.; SCALA, L.; CIGOLINI, M. *et al.* Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD**, 17, n. 7, 2007.

TIAN, X.; HOLICK, M. Catalyzed thermal isomerization between previtamin D3 and vitamin D3 via beta-cyclodextrin complexation. **The Journal of biological chemistry**, 270, n. 15, 1995.

TOMIYAMA, A.; CARR, D.; GRANBERG, E.; MAJOR, B. *et al.* How and why weight stigma drives the obesity 'epidemic' and harms health. **BMC medicine**, 16, n. 1, 2018.

TOTH, P.; BARTER, P.; ROSENSON, R.; BODEN, W. *et al.* High-density lipoproteins: a consensus statement from the National Lipid Association. **Journal of clinical lipidology**, 7, n. 5, 2013.

TURCOT, V.; LU, Y.; HIGHLAND, H.; SCHURMANN, C. *et al.* Protein-altering variants associated with body mass index implicate pathways that control energy intake and expenditure in obesity. **Nature genetics**, 50, n. 1, 2018.

TZIASTOUDI, M.; STEFANIDIS, I.; HADJIGEORGIOU, G.; STRAVODIMOS, K. *et al.* A systematic review and meta-analysis of genetic association studies for the role of inflammation and the immune system in diabetic nephropathy. **Clinical kidney journal**, 10, n. 3, 2017.

UKKOLA, O.; KESÄNIEMI, Y. Preproghrelin Leu72Met polymorphism in patients with type 2 diabetes mellitus. **Journal of internal medicine**, 254, n. 4, 2003.

UKKOLA, O.; RAVUSSIN, E.; JACOBSON, P.; SNYDER, E. *et al.* Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 86, n. 8, 2001.

VAISSE, C.; CLEMENT, K.; DURAND, E.; HERCBERG, S. *et al.* Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity. **The Journal of clinical investigation**, 106, n. 2, 2000.

VAN ABEL, M.; HOENDEROP, J.; VAN DER KEMP, A.; FRIEDLAENDER, M. *et al.* Coordinated control of renal Ca(2+) transport proteins by parathyroid hormone. **Kidney international**, 68, n. 4, 2005.

VAN DER KLAUW, A.; FAROOQI, I. The hunger genes: pathways to obesity. **Cell**, 161, n. 1, 2015.

VAN DER PLAS, W.; NOLTES, M.; VAN GINHOVEN, T.; KRUIJFF, S. Secondary and Tertiary Hyperparathyroidism: A Narrative Review. **Scandinavian journal of surgery : SJS : official organ for the Finnish Surgical Society and the Scandinavian Surgical Society**, 109, n. 4, 2020.

VARELA, J.; NGUYEN, N. Laparoscopic sleeve gastrectomy leads the U.S. utilization of bariatric surgery at academic medical centers. **Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery**, 11, n. 5, 2015.

VEGA, J.; SALAZAR, G.; HODGSON, M.; CATALDO, L. *et al.* Melanocortin-4 Receptor Gene Variation Is Associated with Eating Behavior in Chilean Adults. **Annals of nutrition & metabolism**, 68, n. 1, 2016.

VENSELAAR, H.; TE BEEK, T.; KUIPERS, R.; HEKKELMAN, M. *et al.* Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. **BMC bioinformatics**, 11, 2010.

VICTOR, V.; APOSTOLOVA, N.; HERANCE, R.; HERNANDEZ-MIJARES, A. *et al.* Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in atherosclerosis: mitochondria-targeted antioxidants as potential therapy. **Current medicinal chemistry**, 16, n. 35, 2009.

VILEFORT, L. A.; CAMPOS, I. A. V. P.; CAMPOS, L. A. V. P.; CAETANO, R. F. *et al.* Hipovitaminose D em pediatria: tratamento e prevenção. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, n. 32, p. e8558, 2021.

VILLARREAL-CALDERON, J.; CUELLAR-TAMEZ, R.; CASTILLO, E.; LUNA-CERON, E. *et al.* Metabolic shift precedes the resolution of inflammation in a cohort of patients undergoing bariatric and metabolic surgery. **Scientific reports**, 11, n. 1, 2021.

VIMALESWARAN, K.; BERRY, D.; LU, C.; TIKKANEN, E. *et al.* Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. **PLoS medicine**, 10, n. 2, 2013.

VIRTUE, S.; VIDAL-PUIG, A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome--an allostatic perspective. **Biochimica et biophysica acta**, 1801, n. 3, 2010.

VITOLO, E.; SANTINI, E.; SEGHIARI, M.; GIANNINI, L. *et al.* Heterozygosity for the rs696217 SNP in the Proghrelin Gene Predicts Weight Loss After Bariatric Surgery in Severely Obese Individuals. **Obesity surgery**, 27, n. 4, 2017.

VIX, M.; LIU, K.; DIANA, M.; D'URSO, A. *et al.* Impact of Roux-en-Y gastric bypass versus sleeve gastrectomy on vitamin D metabolism: short-term results from a prospective randomized clinical trial. **Surgical endoscopy**, 28, n. 3, 2014.



WAKI, H.; TONTONOZ, P. Endocrine functions of adipose tissue. **Annual review of pathology**, 2, 2007.

WALSH, J.; BOWLES, S.; EVANS, A. Vitamin D in obesity. **Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity**, 24, n. 6, 2017.

WANG, D.; MA, J.; ZHANG, S.; HINNEY, A. *et al.* Association of the MC4R V103I polymorphism with obesity: a Chinese case-control study and meta-analysis in 55,195 individuals. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, 18, n. 3, 2010.

WANGENSTEEN, T.; KOLSGAARD, M.; MATTINGSDAL, M.; JONER, G. *et al.* Mutations in the melanocortin 4 receptor (MC4R) gene in obese patients in Norway. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, 117, n. 6, 2009.

WEBER, J.; DAVID, D.; HEIL, J.; FAN, Y. *et al.* Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **American journal of human genetics**, 71, n. 4, 2002.

WEI, J.; LEE, W.; CHONG, K.; LEE, Y. *et al.* High Incidence of Secondary Hyperparathyroidism in Bariatric Patients: Comparing Different Procedures. **Obesity surgery**, 28, n. 3, 2018.

WEISBERG, S. P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M. *et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J Clin Invest**, 112, n. 12, p. 1796-1808, 2003.

WELBOURN, R.; HOLLYMAN, M.; KINSMAN, R.; DIXON, J. *et al.* Bariatric Surgery Worldwide: Baseline Demographic Description and One-Year Outcomes from the Fourth IFSO Global Registry Report 2018. **Obes Surg**, 29, n. 3, p. 782-795, 2019.

WHITLOCK, G.; LEWINGTON, S.; SHERLIKER, P.; CLARKE, R. *et al.* Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **Lancet (London, England)**, 373, n. 9669, 2009.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organization technical report series**, 894, 2000.

WHO. **International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th revision.**, 2010. Disponível em: <https://icd.who.int/browse10/2010/en>. Acesso em: 23/08/2023.

WHO. Obesity and overweight. 2023.

WILLIAMS, P.; KRAUSS, R.; VRANIZAN, K.; STEFANICK, M. *et al.* Associations of lipoproteins and apolipoproteins with gradient gel electrophoresis estimates of high density lipoprotein subfractions in men and women. **Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology**, 12, n. 3, 1992.

WILLIAMS, R.; LONG, J.; HANSON, R.; SIEVERS, M. *et al.* Individual estimates of European genetic admixture associated with lower body-mass index, plasma glucose, and prevalence of type 2 diabetes in Pima Indians. **American journal of human genetics**, 66, n. 2, 2000.

WINDANS, A.; BOCK, F. Über das Provitamin aus dem Sterin der Schweineschwarte. **Z Physiol Chem**, 245, n. 3-4, p. 168-170, 1937.

WINDAUS, A.; LETTRE, H.; SCHENCK, F. 7-Dehydrocholesterol. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, 520, p. 98-106, 1935.

WINDAUS, A.; LÜTTRINGHAUS, A.; DEPPE, M. Über das kristallisierte Vitamin D1. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, p. 252, 1931.

WINKLER, T.; JUSTICE, A.; GRAFF, M.; BARATA, L. *et al.* The Influence of Age and Sex on Genetic Associations with Adult Body Size and Shape: A Large-Scale Genome-Wide Interaction Study. **PLoS genetics**, 11, n. 10, 2015.

WITTING, P.; SONG, C.; HSU, K.; HUA, S. *et al.* The acute-phase protein serum amyloid A induces endothelial dysfunction that is inhibited by high-density lipoprotein. **Free radical biology & medicine**, 51, n. 7, 2011.

WORTSMAN, J.; MATSUOKA, L.; CHEN, T.; LU, Z. *et al.* Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. **The American journal of clinical nutrition**, 72, n. 3, 2000.

WU, J.; NIU, P.; ZHAO, Y.; CHENG, Y. *et al.* Impact of miR-223-3p and miR-2909 on inflammatory factors IL-6, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$ , and the TLR4/TLR2/NF- $\kappa$ B/STAT3 signaling pathway induced by lipopolysaccharide in human adipose stem cells. **PloS one**, 14, n. 2, 2019.

WU, I.; ZHAO, Y.; ZHAI, R.; LIU, G. *et al.* Association between polymorphisms in cancer-related genes and early onset of esophageal adenocarcinoma. **Neoplasia (New York, N.Y.)**, 13, n. 4, 2011.

XIANG, Z.; LITHERLAND, S.; SORENSEN, N.; PRONETH, B. *et al.* Pharmacological characterization of 40 human melanocortin-4 receptor polymorphisms with the endogenous proopiomelanocortin-derived agonists and the agouti-related protein (AGRP) antagonist. **Biochemistry**, 45, n. 23, 2006.

XIANG, Z.; POGOZHEVA, I.; SORENSON, N.; WILCZYNSKI, A. *et al.* Peptide and small molecules rescue the functional activity and agonist potency of dysfunctional human melanocortin-4 receptor polymorphisms. **Biochemistry**, 46, n. 28, 2007.

XU, B.; GOULDING, E. H.; ZANG, K.; CEPOI, D. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. **Nature Neuroscience**, 6, n. 7, p. 736-742, 2003.

YATES, C.; STERNBERG, M. The effects of non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) on protein-protein interactions. **Journal of molecular biology**, 425, n. 21, 2013.

YAMAWAKI, H.; FUTAGAMI, S.; SHIMPUKU, M.; SHINDO, T. *et al.* Leu72Met408 Polymorphism of the Ghrelin Gene Is Associated With Early Phase of Gastric Emptying in the Patients With Functional Dyspepsia in Japan. **Journal of neurogastroenterology and motility**, 21, n. 1, 2015.

YANG, Y.; LI, W.; ZHAO, J.; ZHANG, H. *et al.* Association between ghrelin gene (GHRL) polymorphisms and clinical response to atypical antipsychotic drugs in Han Chinese schizophrenia patients. **Behavioral and brain functions : BBF**, 8, 2012.

YENGO, L.; SIDORENKO, J.; KEMPER, K.; ZHENG, Z. *et al.* Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700000 individuals of European ancestry. **Human molecular genetics**, 27, n. 20, 2018.

YONESHIRO, T.; AITA, S.; MATSUSHITA, M.; OKAMATSU-OGURA, Y. *et al.* Age-related decrease in cold-activated brown adipose tissue and accumulation of body fat in healthy humans. **Obesity (Silver Spring)**, 19, n. 9, p. 1755-1760, Sep 2011.

YU, E.; LEY, S.; MANSON, J.; WILLETT, W. *et al.* Weight History and All-Cause and Cause-Specific Mortality in Three Prospective Cohort Studies. **Annals of internal medicine**, 166, n. 9, 2017.

YU, H.; LIN, L.; ZHANG, Z.; ZHANG, H. *et al.* Targeting NF- $\kappa$ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. **Signal transduction and targeted therapy**, 5, n. 1, 2020.

ZAHARAN, N.; MUHAMAD, N.; JALALUDIN, M.; SU, T. *et al.* Non-Synonymous Single-Nucleotide Polymorphisms and Physical Activity Interactions on Adiposity Parameters in Malaysian Adolescents. **Frontiers in endocrinology**, 9, 2018.

ZEB, I.; BUDOFF, M. Coronary artery calcium screening: does it perform better than other cardiovascular risk stratification tools? **International journal of molecular sciences**, 16, n. 3, 2015.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, 372, n. 6505, 1994.

ZHANG, X.; ZHAI, L.; RONG, C.; QIN, X. *et al.* Association of Ghrelin Gene Polymorphisms and Serum Ghrelin Levels with the Risk of Hepatitis B Virus-Related Liver Diseases in a Chinese Population. **PloS one**, 10, n. 11, 2015.

ZHUANG, L.; LI, M.; YU, C.; LI, C. *et al.* The Leu72Met polymorphism of the GHRL gene prevents the development of diabetic nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 387, n. 1, p. 19-25, 2013.

ZHAO, W.; BYRNE, M.; BOYCE, B.; KRANE, S. Bone resorption induced by parathyroid hormone is strikingly diminished in collagenase-resistant mutant mice. **The Journal of clinical investigation**, 103, n. 4, 1999.

ZHAO, X.; GANG, X.; HE, G.; LI, Z. *et al.* Obesity Increases the Severity and Mortality of Influenza and COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Frontiers in endocrinology**, 11, 2020.

ZHU, J.; OCHALEK, J.; KAUFMANN, M.; JONES, G. *et al.* CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 110, n. 39, 2013.

ZHU, L.; LU, Z.; ZHU, L.; OUYANG, X. *et al.* Lipoprotein ratios are better than conventional lipid parameters in predicting coronary heart disease in Chinese Han people. **Kardiologia polska**, 73, n. 10, 2015.

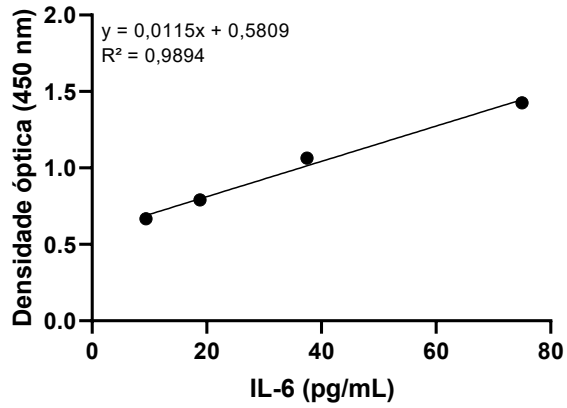
ZITNANOVA, I.; ORAVEC, S.; JANUBOVA, M.; KONARIKOVA, K. *et al.* Gender differences in LDL and HDL subfractions in atherogenic and nonatherogenic phenotypes. **Clinical biochemistry**, 79, 2020.

ZOROVA, L.; POPKOV, V.; PLOTNIKOV, E.; SILACHEV, D. *et al.* Mitochondrial membrane potential. **Analytical biochemistry**, 552, 2018.

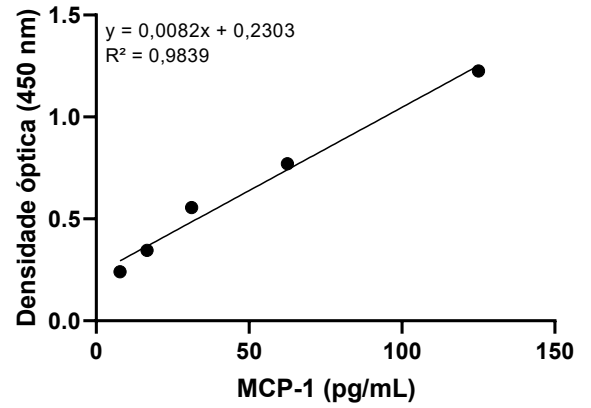
## APÊNDICE A

### Curvas de calibração (ELISA) e NOx

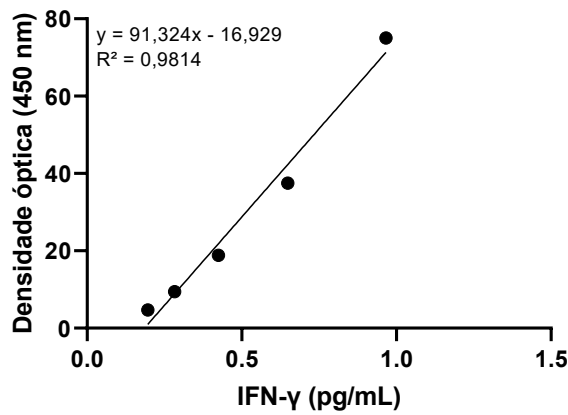
Curva de calibração de IL-6



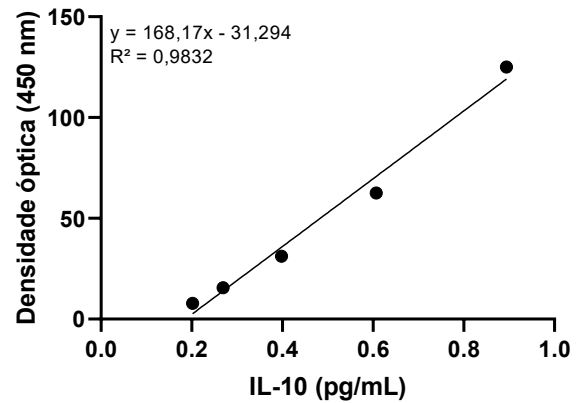
Curva de calibração de MCP-1



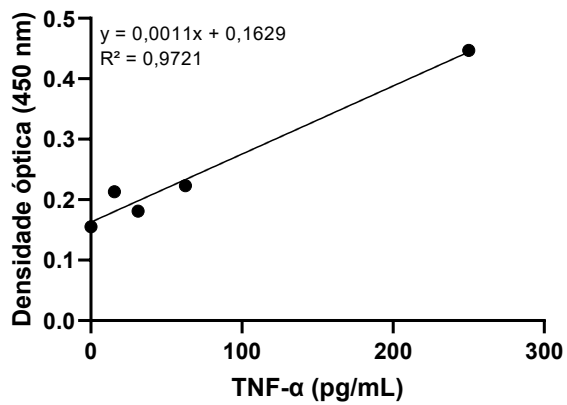
Curva de calibração de IFN-γ



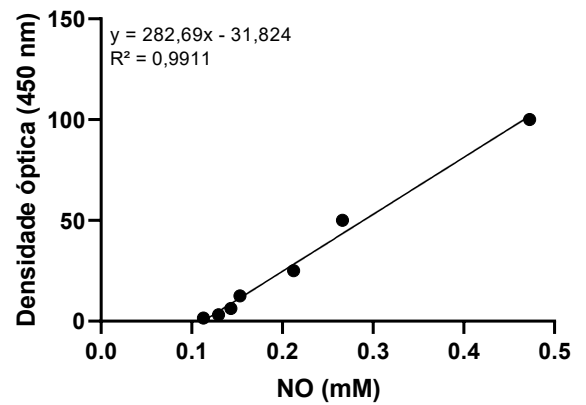
Curva de calibração de IL-10



Curva de calibração de TNF-α



Curva de calibração de NO



## APÊNDICE B

Resultados da pesquisa no *ClinVar* usando a palavra-chave “obesity”.

Variante	Gene(s)	Condição(ões)	Significância Clínica
NM_015047.3(EMC1):c.313C>T (p.Arg105Ter)	EMC1	not provided, Obesity	Uncertain significance
NM_021969.3(NR0B2):c.583G>T (p.Ala195Ser)	NUDC, NR0B2	Obesity, mild, early-onset	Pathogenic
NM_021969.3(NR0B2):c.531del (p.Asp178fs)	NR0B2, NUDC	Obesity	Pathogenic
NM_021969.3(NR0B2):c.100C>T (p.Arg34Ter)	NR0B2, NUDC	Obesity, mild, early-onset	Pathogenic
NM_014654.4(SDC3):c.986C>T (p.Thr329Ile)	SDC3	Obesity, association with	association
NM_014654.4(SDC3):c.622G>A (p.Val208Ile)	SDC3	Obesity, association with	association
NM_001365999.1(SZT2):c.9893G>A (p.Arg3298His)	SZT2, SZT2-AS1	Obesity, Global developmental delay, Generalized epilepsy	Uncertain significance
NM_002303.5(LEPR):c.2880C>G (p.Asn960Lys)	LEPR	Obesity	Likely pathogenic
NM_002303.5(LEPR):c.3417A>G (p.Ala1139=)	LEPR	Obesity, Leptin receptor deficiency, not provided, Monoallelic Non-Syndromic	Conflicting
NM_002303.5(LEPR):c.3423C>T (p.Tyr1141=)	LEPR	Obesity	Likely benign
NM_015100.4(POGZ):c.3638G>A (p.Trp1213Ter)	POGZ	Obesity	Likely benign
NC_000002.12:q.634905T>C		Obesity	risk factor
NM_020738.4(KIDINS220):c.5079_5080del (p.Asn1693fs)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4947C>G (p.Asp1649Glu)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity, not	Conflicting
NM_020738.4(KIDINS220):c.4549C>T (p.Gln1517Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.4520dup (p.Leu1507fs)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4138C>T (p.Gln1380Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Likely pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4096C>T (p.Gln1366Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4053+1G>T	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance

NM_020738.4(KIDINS220):c.4050G>A (p.Trp1350Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.2987T>G (p.Met996Arg)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.2712C>G (p.Tyr904Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.2702G>A (p.Arg901Gln)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.2428A>G (p.Ile810Val)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.974A>G (p.Asn325Ser)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Not provided
NM_020738.4(KIDINS220):c.900+5G>A	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.746C>T (p.Thr249Met)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.578_579delinsTT	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.299G>A (p.Arg100His)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_020738.4(KIDINS220):c.207+3A>G	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.*120A>G	POMC	Obesity, Proopiomelanocortin deficiency	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.*63C>T	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Benign
NM_000939.4(POMC):c.801G>A (p.Glu267=)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.706C>G (p.Arg236Gly)	POMC	not provided, Proopiomelanocortin deficiency, Obesity, early-onset,	Conflicting
NM_000939.4(POMC):c.662A>G (p.Tyr221Cys)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Conflicting
NM_000939.4(POMC):c.642G>A (p.Glu214=)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.641A>G (p.Glu214Gly)	POMC	Obesity, not provided, not specified	Likely benign
NM_000939.4(POMC):c.638C>T (p.Ala213Val)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.599_604dup	POMC	not provided, Obesity, Abnormality of skin pigmentation	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.585C>T (p.Ala195=)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Benign
NM_000939.4(POMC):c.498C>T (p.Asp166=)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM_000939.4(POMC):c.491C>T (p.Ala164Val)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance

NM 000939.4(POMC):c.474G>T (p.Lvs158Asn)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.429C>G (p.His143Gln)	POMC	not provided, Obesity, Proopiomelanocortin deficiency	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.394C>G (p.Pro132Ala)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.346C>T (p.Leu116=)	POMC	Obesity, not provided	Benian/Likely benian
NM 001035256.2(POMC):c.297 298ins90 (p.?)	POMC	Obesity	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.283A>G (p.Ser95Gly)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.282C>T (p.Ser94=)	POMC	Obesity, Proopiomelanocortin deficiency	Benign
NM 000939.4(POMC):c.261C>A (p.Phe87Leu)	POMC	not provided, Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Conflicting
NM 000939.4(POMC):c.158A>G (p.Asp53Gly)	POMC	Obesity, Proopiomelanocortin deficiency, not provided	Conflicting
NM 000939.4(POMC):c.116C>T (p.Thr39Met)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.26C>T (p.Ser9Leu)	POMC	Obesity, Abnormality of skin pigmentation	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.18C>T (p.Cys6=)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity, not provided	Conflicting
NM 000939.4(POMC):c.4C>T (p.Pro2Ser)	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.-20-904T>C	POMC	Obesity, Proopiomelanocortin deficiency	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.-20-906C>T	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 001035256.2(POMC):c.-203A>G	POMC, LOC108167315	Obesity, Proopiomelanocortin deficiency	Conflicting
NM 001035256.2(POMC):c.-263C>A	POMC, LOC108167315	Proopiomelanocortin deficiency, Obesity	Uncertain significance
NM 025133.4(FBXO11):c.188C>G (p.Ser63Ter)	FBXO11	Obesity	Likely pathogenic
NM 001330078.2(NRXN1):c.3499C>T (p.Ara1167Ter)	NRXN1	not provided, Obesity	Conflicting
NM 003466.4(PAX8):c.1011del (p.Val339fs)	PAX8	Obesity, Immunodeficiency, Hypothyroidism, Protruding tongue, Severe T-	Uncertain significance
NM 001165963.4(SCN1A):c.971 973ATT11 (p.Tyr325del)	SCN1A	Intellectual disability, Obesity, Seizures, not provided	Pathogenic/Likely
NM 016362.5(GHRL):c.269A>T (p.Gln90Leu)	GHRL, GHRLOS	not provided	risk factor
NM 016362.5(GHRL):c.214C>A (p.Leu72Met)	GHRLOS, GHRL	Metabolic syndrome, susceptibility to, Obesity, age at onset of	Pathogenic, risk factor



NM_016362.5(GHRL):c.152G>A (p.Arg51Gln)	GHRL, GHRLOS	Metabolic syndrome, susceptibility to, Obesity	risk factor
NM_015869.4(PPARG):c.-22C>T	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Benign/Likely benign
NM_015869.4(PPARG):c.34C>G (p.Pro12Ala)	PPARG	not specified, Obesity, Familial partial lipodystrophy 3, Diabetes Mellitus,	Likely benign
NM_001354669.1(PPARG):c.-400C>G	PPARG	Diabetes mellitus, noninsulin-dependent, modifier of, Obesity, modifier of,	risk factor
NM_138711.6(PPARG):c.46_58del (p.Ser17fs)	PPARG	Obesity	Likely pathogenic
NM_138711.6(PPARG):c.56A>C (p.Asp19Ala)	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Uncertain significance
NM_015869.4(PPARG):c.235G>A (p.Glu79Lys)	PPARG	Familial partial lipodystrophy 3, Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent,	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.240C>T (p.Asp80=)	PPARG	Familial partial lipodystrophy 3, not provided, Obesity, Diabetes Mellitus,	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.288C>T (p.Asp96=)	PPARG	Familial partial lipodystrophy 3, not provided, Obesity, Diabetes Mellitus,	Uncertain significance
NM_015869.4(PPARG):c.438T>C (p.Ala146=)	PPARG	not specified, Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.481-3C>T	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Conflicting
NM_138711.6(PPARG):c.393T>C (p.Gly131=)	PPARG	Familial partial lipodystrophy 3, Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent,	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.507G>A (p.Leu169=)	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Conflicting
NM_138711.6(PPARG):c.431A>G (p.Asp144Gly)	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Uncertain significance
NM_138711.6(PPARG):c.629G>A (p.Arg210Gln)	PPARG,	Familial partial lipodystrophy 3, Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent,	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.891C>G (p.Pro297=)	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Benign
NM_015869.4(PPARG):c.1206C>A (p.Phe402Leu)	PPARG	Familial partial lipodystrophy 3, Obesity, Diabetes Mellitus, Noninsulin-	Uncertain significance
NM_138711.6(PPARG):c.1224A>G (p.Gln408=)	PPARG	Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis Nigricans and	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.1371A>G (p.Ser457=)	PPARG	not provided, Obesity, Familial partial lipodystrophy 3, Diabetes Mellitus,	Benign/Likely benign
NM_015869.4(PPARG):c.1431C>T (p.His477=)	PPARG	not specified, Familial partial lipodystrophy 3, Glioma susceptibility 1,	Likely benign
NM_015869.4(PPARG):c.1452C>T (p.Ile484=)	PPARG	not provided, Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent, with Acanthosis	Benign/Likely benign
NM_015869.4(PPARG):c.1484C>T (p.Pro495Leu)	PPARG	Lipodystrophy (disease), Obesity, Familial partial lipodystrophy 3, Diabetes	Conflicting
NM_015869.4(PPARG):c.1509C>T (p.Asp503=)	PPARG	Familial partial lipodystrophy 3, Obesity, Diabetes Mellitus, Noninsulin-	Uncertain significance

NC 000003.12:a.41359534 41821951del	ULK4	Obesity	Uncertain significance
NM 004291.4(CARTPT):c.183G>C (p.Leu61Phe)	CARTPT	Obesity	Uncertain significance
GRCh37/hq19 5p14.3-14.2(chr5:22308420-24492723)	CDH10, CDH12,	Obesity, Global developmental delay, Hypermetropia, Short phalanx of finger,	Uncertain significance
NM 017774.3(CDKAL1):c.371+11642G>C	CDKAL1	Obesity	risk factor
NM 017934.7(PHIP):c.4661C>T (p.Ala1554Val)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Uncertain significance
NM 017934.7(PHIP):c.4631-2A>T	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.4570del (p.Ser1524fs)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.4495G>A (p.Glu1499Lvs)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Uncertain significance
NM 017934.7(PHIP):c.3947dup (p.Tyr1316Ter)	IRAK1BP1, PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic/Likely
NM 017934.7(PHIP):c.3782+3 3782+6del	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3656+1242A>T	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3631 3634del (p.Gln1211fs)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3610A>G (p.Thr1204Ala)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Uncertain significance
NM 017934.7(PHIP):c.3595del (p.Thr1198 Val1199insTer)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3571C>T (p.Gln1191Ter)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3502dup (p.Ile1168fs)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3447T>G (p.Tyr1149Ter)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3161del (p.Val1053 Leu1054insTer)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.3110C>A (p.Ser1037Ter)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.2902C>T (p.Arg968Ter)	PHIP, IRAK1BP1	not provided, Developmental delay, intellectual disability, obesity, and	Conflicting
NM 017934.7(PHIP):c.2744 2747del (p.Lys915fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM 017934.7(PHIP):c.2499AGAI2I (p.Glu836del)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Uncertain significance
NM 017934.7(PHIP):c.2368C>T (p.Gln790Ter)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic

NM_017934.7(PHIP):c.2305_2306insGA (p.Pro769fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.1562A>G (p.Lys521Arg)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.1558dup (p.Cys520fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.1507C>T (p.Arg503Ter)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features.	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.860C>A (p.Ser287Tyr)	PHIP	not provided. Developmental delay, intellectual disability, obesity, and	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.779del (p.Leu260fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features.	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.705T>G (p.Tyr235Ter)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.686C>T (p.Ser229Leu)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.631G>A (p.Ala211Thr)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Uncertain significance
NM_017934.7(PHIP):c.598_599delinsT (p.Thr200fs)	PHIP	not provided. Developmental delay, intellectual disability, obesity, and	Pathogenic/Likely
NM_017934.7(PHIP):c.562T>C (p.Cys188Arg)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.540_541insA (p.Gly181fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.328C>T (p.Arg110Cys)	PHIP	Inborn genetic diseases. Developmental delay, intellectual disability, obesity.	Conflicting
NM_017934.7(PHIP):c.328C>A (p.Arg110Ser)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.298_299del (p.Leu100fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.50T>C (p.Phe17Ser)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features.	Likely pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.2T>C (p.Met1Thr)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_006208.3(ENPP1):c.517A>C (p.Lys173Gln)	ENPP1	Arterial calcification, generalized, of infancy, 1, not specified.	Benign
NM_006208.3(ENPP1):c.2101-11del	ENPP1	Diabetes mellitus type 2, susceptibility to, not specified, Obesity.	Benign
NM_006208.3(ENPP1):c.*1043A>G	ENPP1	Arterial calcification, generalized, of infancy, 1, Hypophosphatemic rickets,	Benign
Single allele	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_172056.2(KCNH2):c.1682C>T (p.Ala561Val)	KCNH2	Cardiovascular phenotype, not provided, Prolonged QT interval, Obesity.	Pathogenic/Likely
NM_000025.3(ADRB3):c.190T>C (p.Trp64Arg)	ADRB3	Obesity	risk factor

NM_015214.3(DDHD2):c.1978G>C (p.Asp660His)	DDHD2	Obesity, Generalized epilepsy, Global developmental delay, Spastic	Pathogenic/Likely
NM_000170.2(GLDC):c.1545G>C (p.Arg515Ser)	GLDC	Global developmental delay, Obesity, Generalized epilepsy, Non-ketotic	Pathogenic
NM_006180.4(NTRK2):c.1330G>T (p.Gly444Ter)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Pathogenic
NM_006180.4(NTRK2):c.2000C>G (p.Ser667Trp)	NTRK2	Obesity	Uncertain significance
NM_006180.6(NTRK2):c.2012A>G (p.His671Arg)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Uncertain significance
NM_006180.4(NTRK2):c.2159C>T (p.Thr720Ile)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Pathogenic
NM_006180.4(NTRK2):c.2165A>G (p.Tyr722Cys)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Pathogenic
NM_014974.3(DIP2C):c.262C>T (p.Arg88Trp)	DIP2C	Obesity, Neurodevelopmental delay	Uncertain significance
NM_001195307.1(BBIP1):c.38-1015C>T	BBIP1	Obesity, Postaxial hand polydactyly, Hypogonadotropic hypogonadism 7 with	Pathogenic
NM_021008.3(DEAF1):c.667G>A (p.Gly223Ser)	DEAF1	not provided, Dyskinesia, seizures, and intellectual developmental disorder,	Conflicting
NM_003320.4(TUB):c.42_45del	TUB	not provided, Retinal dystrophy and obesity	Conflicting
NM_003320.4(TUB):c.1355_1356AG[2] (p.Arg453fs)	TUB, RIC3	Retinal dystrophy and obesity	Pathogenic
NM_177972.3(TUB):c.1215+1G>A	TUB, RIC3	Retinal dystrophy and obesity	Likely pathogenic
NM_001709.5(BDNF):c.557G>A (p.Cys186Trp)	BDNF, BDNF-AS	Obesity	Likely pathogenic
NM_001709.5(BDNF):c.5C>T (p.Thr2Ile)	BDNF, BDNF-AS	not specified, Congenital central hypoventilation, Obesity	Uncertain significance
NM_001709.5(BDNF):c.-21-15633G>A	BDNF, BDNF-AS	Obesity	Benign
NM_003356.4(UCP3):c.490G>A (p.Asp164Asn)	UCP3	Obesity	Uncertain significance
NM_003356.4(UCP3):c.427C>T (p.Arg143Ter)	UCP3	Obesity, severe, and type II diabetes, not provided	Likely benign
NM_003356.4(UCP3):c.365C>T (p.Ala122Val)	UCP3	Obesity	Uncertain significance
NM_003356.4(UCP3):c.304G>A (p.Val102Ile)	UCP3	UCP3 POLYMORPHISM G/A, Obesity, severe, and type II diabetes	Conflicting
NM_003356.4(UCP3):c.208C>T (p.Arg70Trp)	UCP3	Obesity, severe, and type II diabetes	Pathogenic
NM_000829.4(GRIA4):c.2209C>T (p.Arg737Ter)	GRIA4	Obesity	Likely benign
NM_001037954.4(DIXDC1):c.793C>T (p.Arg265Ter)	DIXDC1	Obesity	Likely benign

NM_012062.5(DNM1L):c.28A>T (p.Lvs10Ter)	DNM1L	Obesity	Likely benign
NC_000012.12:q.49853685G>A		Obesity	risk factor
NM_005996.4(TBX3):c.1208G>A (p.Arg403Gln)	TBX3	Obesity, not specified, not provided	Likely benign
NM_023012.6(RSRC2):c.425G>A (p.Arg142Gln)	RSRC2	Obesity, Global developmental delay, Mvopia (disease), Strabismus, Autistic	Likely pathogenic
NM_182914.2(SYNE2):c.19624G>T (p.Glv6542Trp)	SYNE2	Obesity, Obstructive sleep apnea syndrome, Muscle weakness,	Uncertain significance
NM_000059.3(BRCA2):c.4936_4939del (p.Glu1646fs)	BRCA2	not provided, Breast-ovarian cancer, familial 2, Hereditary cancer-	Pathogenic
NM_020843.4(SCAPER):c.2806del	SCAPER	Pigmentary retinopathy, Brachydactyly, Obesity, Intellectual disability, Short	Pathogenic
NM_001126131.2(POLG):c.1268_1269CTT11 (p.Leu424fs)	POLG	not provided, Obesity, Global developmental delay, Generalized epilepsv,	Pathogenic
GRCh37/hg19_15q11.2(chr15:22765628-23300287)	CYFIP1, NIPA2,	Hypertensive disorder, Obesity, Abnormal platelet shape, Abnormal platelet	Pathogenic
NM_001080432.3(FTO):c.46-43098T>C	FTO	OBESITY (BMIQ14), SUSCEPTIBILITY TO	risk factor
NM_001138.2(AGRP):c.199G>A (p.Ala67Thr)	AGRP, ATP6V0D1-DT	Obesity, late-onset, Leanness, inherited	Pathogenic, association
NM_019023.5(PRMT7):c.322G>T (p.Glu108Ter)	PRMT7	Short stature, brachydactyly, intellectual developmental disability, and	Pathogenic/Likely
NM_019023.5(PRMT7):c.1713C>A (p.Cvs571Ter)	PRMT7	Insulin resistance, Acanthosis nigricans, Obesity, Hyperlipidemia,	Pathogenic
NM_001201407.1(ZNF778):c.1894C>T (p.Leu632Phe)	ZNF778	Obesity, Seizures, Global developmental delay, Microcephaly	Uncertain significance
GRCh37/hg19_16p11.2(chr16:29592783-30190568)	ALDOA, KIF22, MAZ,	Obesity, Narrow mouth, Delayed speech and language development	Pathogenic
NM_004160.5(PYY):c.185A>C (p.Gln62Pro)	PYY	Obesity	Uncertain significance
NM_005912.3(MC4R):c.972C>T (p.Glv324=)	MC4R	Obesity, not specified	Uncertain significance
NM_005912.3(MC4R):c.949A>T (p.Ile317Phe)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM_005912.3(MC4R):c.947T>G (p.Ile316Ser)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity	Likely pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	MC4R	Obesity, not provided	Likely pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.896C>A (p.Pro299His)	MC4R	Obesity	Pathogenic

NM 005912.3(MC4R):c.838T>C (p.Phe280Leu)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.835 836dup (p.Phe280fs)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.836G>A (p.Cys279Tyr)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	MC4R	not specified, Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.821A>G (p.Asn274Ser)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.812G>A (p.Cys271Tyr)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	MC4R	not specified, Obesity, not provided	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.757G>A (p.Val253Ile)	MC4R	Obesity	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.750 751del (p.Ile251fs)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity, autosomal	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.751A>C (p.Ile251Leu)	MC4R	not provided, Monogenic diabetes, not specified, Obesity	Benign/Likely benign
NM 005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	MC4R	Monogenic diabetes, Obesity	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.655G>T (p.Ala219Ser)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.606C>A (p.Phe202Leu)	MC4R	Monogenic diabetes, Obesity, not specified, not provided	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.594C>T (p.Ile198=)	MC4R	not specified, not provided, Obesity	Benign
NM 005912.3(MC4R):c.538T>C (p.Ser180Pro)	MC4R	Obesity	Likely pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.534G>A (p.Thr178=)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.523G>A (p.Ala175Thr)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.496G>A (p.Val166Ile)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.494G>A (p.Arg165Gln)	MC4R	Obesity	Pathogenic

NM 005912.3(MC4R):c.468G>A (p.Gln156=)	MC4R	not provided, Obesity	Benian/Likely benian
NM 005912.3(MC4R):c.466C>T (p.Gln156Ter)	MC4R	Monoqenic diabetes, BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS	Pathogenic/Likely
NM 005912.3(MC4R):c.449C>T (p.Thr150Ile)	MC4R	Obesity, autosomal dominant, Obesity	Likely pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.407C>T (p.Ser136Phe)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.405A>C (p.Ala135=)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.380C>T (p.Ser127Leu)	MC4R	not provided, BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20,	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.373A>G (p.Ile125Val)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.335C>T (p.Thr112Met)	MC4R	Obesity, not provided	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.307G>A (p.Val103Ile)	MC4R	Monoqenic diabetes, Obesity, MELANOCORTIN 4 RECEPTOR	Benian
NM 005912.3(MC4R):c.206T>G (p.Ile69Arg)	MC4R	Obesity, autosomal dominant	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.201G>A (p.Val67=)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.181G>A (p.Glu61Lys)	MC4R	Obesity, autosomal dominant, not provided, Obesity	Pathogenic/Likely
NM 005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	MC4R	Obesity	Conflicting
NM 005912.2(MC4R):c.110A>T (p.Asp37Val)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, not specified,	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.[105C>A;110A>T]	MC4R, MC4R	Obesity	Pathogenic
NM 005912.2(MC4R):c.105C>A (p.Tyr35Ter)	MC4R	not provided, Schizophrenia, Obesity	Pathogenic
NM 005912.3(MC4R):c.63_64del (p.Tyr21_Arq22delinsTer)	MC4R	Obesity	Conflicting
NM 005912.3(MC4R):c.21T>C (p.Arg7=)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.15C>T (p.Thr5=)	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-18T>C	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-59G>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-60C>G	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-64G>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance

NM 005912.3(MC4R):c.-66C>T	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-121G>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-161C>T	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-176A>G	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-178A>C	MC4R	Obesity	Benign
NM 005912.3(MC4R):c.-216C>T	MC4R	Obesity	Benign
NM 005912.3(MC4R):c.-220G>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-263A>G	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-295A>G	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-359C>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-360G>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-375G>T	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 005912.3(MC4R):c.-386G>A	MC4R	Obesity	Uncertain significance
NM 001128849.2(SMARCA4):c.4328G>A (p.Arg1443Gln)	SMARCA4	Obesity, intellectual deficiency, Hereditary cancer-predisposing syndrome,	Uncertain significance
NM 000540.2(RYR1):c.10097G>T (p.Arg3366Leu)	RYR1	Obesity, Obstructive sleep apnea syndrome, Muscle weakness,	Uncertain significance
GRCh37/hg19 19p13.3(chr19:3976203-4345430)	EEF2, MAP2K2, EBI3,	Obesity, Global developmental delay	Pathogenic
NM 000516.6(GNAS):c.85C>T (p.Gln29Ter)	GNAS	not provided, Pseudohypoparathyroidism type 1B, Obesity, Brachydactyly,	Pathogenic
NM 002473.5(MYH9):c.4271A>G (p.Asp1424Gly)	MYH9	MYH9-related disorder, Hypertensive disorder, Obesity, Abnormal platelet	Likely pathogenic
NM 012310.5(KIF4A):c.1553G>C (p.Arg518Pro)	KIF4A	Obesity, Horizontal nystagmus, Sleep disturbance, Difficulty walking, Poor	Uncertain significance
m.15497G>A	MT-CYB	not provided, Leigh syndrome, Obesity	Benign/Likely benign
46:XX:t(2;10)(q22;22.3)dn		Metatarsus valgus, Specific learning disability, Obesity, Diastema, Overbite,	Pathogenic
46:X:t(X;21)(q26.1;q21.22)dn		Unilateral ptosis, Obesity, Generalized myoclonic seizures, Motor delay, Thin	Uncertain significance
46:XX:t(10;15)(q25.2;q11.2)		Obesity, Motor delay, Acromesomelia, Delayed speech and language	Pathogenic



46:XX:t(7;12)(q11.2;q12).ish		Tetralogy of Fallot, Obesity, Intellectual disability, Abnormal facial shape,	Uncertain significance
46:XY;t(1;6)(p32;p24)		Obesity, Abnormal facial shape, Global developmental delay	Likely pathogenic
46:XY;t(1;2)(q31.2;p15)		Obesity, Obsessive-compulsive behavior, Motor delay, Behavioral	Likely pathogenic
46:XX:t(2;11)(q11.2;p13)dn		Sleep disturbance, Obesity, Anxiety, Sleep apnea, Agitation, Motor delay,	Pathogenic
46:XX:t(9;19)(q22.3;q13.1)dn		Obesity, Erythematous papule, Behavioral abnormality, Pustule, Abnormal	Uncertain significance
46;Y;inv(X)(q27q28)		Macroorchidism, Acanthosis nigricans, Obesity, Hyperpigmentation of the	Uncertain significance
46;X;inv(X)(q26q28)dn		Increased intracranial pressure, Accelerated skeletal maturation, Obesity,	Uncertain significance
AQP7, -953, A-G	AQP7	OBESITY (BMIQ17), SUSCEPTIBILITY TO	risk factor
NM_001029882.3(AHDC1):c.2773C>T (p.Arg925Ter)	AHDC1	Xia-Gibbs syndrome, Abdominal obesity-metabolic syndrome 3, not provided	Pathogenic/Likely
NM_004714.3(DYRK1B):c.1541G>A (p.Arg514Gln)	DYRK1B	Abdominal obesity-metabolic syndrome 3	Uncertain significance
NM_004714.3(DYRK1B):c.304C>T (p.Arg102Cys)	DYRK1B	Abdominal obesity-metabolic syndrome 3	Pathogenic
NM_004714.3(DYRK1B):c.269A>C (p.His90Pro)	DYRK1B	Abdominal obesity-metabolic syndrome 3	Pathogenic
NM_017526.5(LEPROT):c.-49C>T	LEPR, LEPROT	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM_017526.5(LEPROT):c.-10T>C	LEPROT, LEPR	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Benign
NM_017526.5(LEPROT):c.-8C>T	LEPR, LEPROT	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM_017526.5(LEPROT):c.21C>T (p.Leu7=)	LEPROT, LEPR	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, not provided, Leptin receptor deficiency	Conflicting
NM_001003679.3(LEPR):c.-20-15A>T	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoogenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM_001003679.3(LEPR):c.326A>G (p.Lvs109Arg)	LEPR	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, LEPTIN RECEPTOR	Benign
NM_001003679.3(LEPR):c.371A>G (p.Asp124Glu)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoogenic diabetes, Monoogenic Non-Syndromic	Uncertain significance
NM_001003679.3(LEPR):c.536G>A (p.Gly179Asp)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoogenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM_001003679.3(LEPR):c.666C>G (p.Phe222Leu)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoogenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM_001003679.3(LEPR):c.668A>G (p.Gln223Arg)	LEPR	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, LEPTIN RECEPTOR	Benign
NM_001003679.3(LEPR):c.716C>T (p.Pro239Leu)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoogenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance

NM 001003679.3(LEPR):c.921G>C (p.Gln307His)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 001003679.3(LEPR):c.1029T>C (p.Ser343=)	LEPR	Leptin receptor deficiency, not provided, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Benign/Likely benign
NM 001003679.3(LEPR):c.1166G>A (p.Ser389Asn)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 001003679.3(LEPR):c.1246C>T (p.His416Tyr)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 001003679.3(LEPR):c.1411C>A (p.Leu471Ile)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 001003679.3(LEPR):c.1968G>C (p.Lys656Asn)	LEPR	not provided, Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity,	Benign/Likely benign
NM 001003679.3(LEPR):c.2103C>T (p.Phe701=)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 001003679.3(LEPR):c.2397T>G (p.Asp799Glu)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.2698A>G (p.Ile900Val)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic diabetes, Monoagenic Non-Syndromic	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.2970C>G (p.Ile990Met)	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.3019A>T (p.Ser1007Cys)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic diabetes, Monoagenic Non-Syndromic	Conflicting
NM 002303.5(LEPR):c.3057G>A (p.Pro1019=)	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor	Benign
NM 002303.5(LEPR):c.3078T>C (p.Asn1026=)	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.3114A>G (p.Ile1038Met)	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.3479T>C (p.Met1160Thr)	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic diabetes, Monoagenic Non-Syndromic	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.*60 *61insCTTTA	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Likely benign
NM 002303.5(LEPR):c.*112T>C	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.*188A>C	LEPR	Leptin receptor deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.*201C>T	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM 002303.5(LEPR):c.*362 *363delCA	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Benign
NM 002303.5(LEPR):c.*403T>C	LEPR	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin receptor deficiency	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.*28del	POMC	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proopiomelanocortin deficiency	Uncertain significance
NM 000939.4(POMC):c.280 288AGCAGCGGC[3]	POMC	Proopiomelanocortin deficiency, not specified, Monoagenic Non-Syndromic	Benign/Likely benign

NM 000439.5(PCSK1):c.*2288A>G	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*2166C>T	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*2019A>G	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1912G>A	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1854T>A	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1842G>A	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1733G>A	PCSK1.	Monoqenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1571A>G	PCSK1.	Monoqenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1530T>C	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Likely benian
NM 000439.5(PCSK1):c.*1443C>T	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1414A>C	LOC101929710.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1401C>T	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1333A>T	LOC101929710.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1232G>A	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1231C>T	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1164T>C	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1097C>A	LOC101929710.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*1041T>A	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Likely benian
NM 000439.5(PCSK1):c.*905T>C	LOC101929710.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*837G>A	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*826del	LOC101929710.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.*737 *739dup	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Likely benian
NM 000439.5(PCSK1):c.*597T>C	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoqenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance

NM 000439.5(PCSK1):c.*471C>G	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*287A>G	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*265T>C	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Benign/Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.*262del	PCSK1.	Proprotein convertase 1/3 deficiency, Monoagenic Non-Syndromic Obesity	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.*88G>C	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.2253G>A (p.Glu751=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.2137C>T (p.Leu713Phe)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.2069G>C (p.Ser690Thr)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Benign/Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.1993C>G (p.Gln665Glu)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Benign/Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.1923G>A (p.Leu641=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Conflicting
NM 000439.5(PCSK1):c.1764G>A (p.Lys588=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.1650T>C (p.Asn550=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Benign/Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.1503C>T (p.Ile501=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.1414A>G (p.Asn472Asp)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.1197-9C>T	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Conflicting
NM 000439.5(PCSK1):c.1196+10A>G	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.1179T>C (p.Ala393=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.1096-10C>T	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.709+11G>A	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.612C>T (p.Asn204=)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.397-10T>C	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Conflicting
NM 000439.5(PCSK1):c.284G>A (p.Arg95His)	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.-21G>A	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency,	Uncertain significance

NM 000439.5(PCSK1):c.-96C>T	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency.	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.-101T>C	PCSK1,	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency.	Benign/Likely benign
NM 000439.5(PCSK1):c.-137A>G	LOC101929710.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Proprotein convertase 1/3 deficiency.	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.-140C>T	PCSK1.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Proprotein convertase 1/3 deficiency.	Uncertain significance
NM 000439.5(PCSK1):c.-147C>G	LOC101929710.	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Proprotein convertase 1/3 deficiency.	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.-39G>A	LEP, LOC106728418	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.21C>T (p.Cys7=)	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, not provided, Leptin deficiency or	Conflicting
NM 000230.3(LEP):c.144+15C>T	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.181G>A (p.Asp61Asn)	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.212C>A (p.Thr71Asn)	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.280G>A (p.Val94Met)	LEP	Monoagenic diabetes, Leptin deficiency or dysfunction, Monoagenic Non-	Benign/Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*34G>A	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*69A>G	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*150G>A	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*204C>T	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*300C>T	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*360G>A	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*366A>T	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*400G>T	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*422G>C	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*785A>G	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*992G>T	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1010C>A	LEP	Monoagenic Non-Syndromic Obesity. Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance

NM 000230.3(LEP):c.*1014C>G	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1243A>G	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*1260A>G	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1428C>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1549T>C	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1640C>T	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1678C>T	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*1720A>G	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Benign
NM 000230.3(LEP):c.*2015C>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2053G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2205G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*2224G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2234G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2253C>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Benign/Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*2267A>C	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2410G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Benign/Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*2527G>T	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2579G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2595C>T	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2595C>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*2738G>A	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2799C>T	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 000230.3(LEP):c.*2819 *2822dup	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance

NM 000230.3(LEP):c.*2820 *2822dup	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Likely benign
NM 000230.3(LEP):c.*2822dup	LEP	Monoogenic Non-Syndromic Obesity, Leptin deficiency or dysfunction	Uncertain significance
NM 001354669.1(PPARG):c.-180C>A	PPARG	Morbid obesity	Pathogenic
NM 032898.5(CEP19):c.232C>T (p.Arg78Ter)	CEP19	Morbid obesity and spermatogenic failure, not provided	Uncertain significance
NM 003356.4(UCP3):c.824+1G>A	UCP3	not provided, Morbid obesity, UCP3 POLYMORPHISM, EXON 6 SPLICE	Benign
NM 005068.2(SIM1):c.*1453G>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.*1369C>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*1331T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*1278C>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.*1132A>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Likely benign
NM 005068.2(SIM1):c.*1125T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.*999T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.*937C>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Likely benign
NM 005068.3(SIM1):c.*873T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.*775G>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*589G>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*583G>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.*521A>G	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.*470C>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.2(SIM1):c.*450T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*375C>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.2(SIM1):c.*348A>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.2(SIM1):c.*183A>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Likely benign

NM 005068.3(SIM1):c.*128C>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*113A>T	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.2(SIM1):c.*99G>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.*56A>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.*51G>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.*15A>G	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.2292C>T (p.Asn764=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided	Benign/Likely benign
NM 005068.3(SIM1):c.2267A>G (p.Lvs756Arg)	SIM1	Microcephaly, Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.2194T>C (p.Leu732=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.2193C>T (p.Ser731=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.2119G>C (p.Asp707His)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided, Monogenic diabetes,	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.2111A>T (p.Gln704Leu)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.2108G>A (p.Arg703Gln)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.2100C>G (p.Glv700=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided	Benign/Likely benign
NM 005068.3(SIM1):c.2039C>T (p.Ser680Leu)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.1994G>A (p.Arg665His)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided, Oromandibular-limb	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.1959C>T (p.Thr653=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.1865C>T (p.Ser622Phe)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.1802A>G (p.Lvs601Arg)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.1569T>C (p.His523=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.1545C>T (p.His515=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.1452C>G (p.Ala484=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.1352T>A (p.Leu451His)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance



NM 005068.3(SIM1):c.1327A>G (p.Ser443Gly)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.1260G>C (p.Leu420=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.1236C>A (p.Thr412=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided	Benign/Likely benign
NM 005068.3(SIM1):c.1193C>T (p.Ser398Leu)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.1147A>G (p.Arg383Gly)	SIM1, SIM1-AS1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.1125C>T (p.Leu375=)	SIM1, SIM1-AS1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.1112C>T (p.Ala371Val)	SIM1, SIM1-AS1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.2(SIM1):c.1082C>T (p.Thr361Ile)	SIM1, SIM1-AS1	not provided, Obesity due to SIM1 deficiency, not specified	Benign/Likely benign
NM 005068.3(SIM1):c.1054C>T (p.Pro352Ser)	SIM1, SIM1-AS1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.1054C>A (p.Pro352Thr)	SIM1, SIM1-AS1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.994C>T (p.Leu332Phe)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.916T>C (p.Trp306Arg)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.816C>T (p.Cys272=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.804T>C (p.His268=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided	Conflicting
NM 005068.2(SIM1):c.804T>G (p.His268Gln)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.628C>T (p.Leu210=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.624G>A (p.Val208=)	SIM1	not specified, Obesity due to SIM1 deficiency	Conflicting
NM 005068.2(SIM1):c.544-15A>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM 005068.3(SIM1):c.383T>C (p.Ile128Thr)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided, Monoogenic diabetes	Conflicting
NM 005068.3(SIM1):c.289C>A (p.Pro97Thr)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.2(SIM1):c.279C>T (p.Phe93=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency, not provided	Conflicting
NM 005068.3(SIM1):c.264G>A (p.Leu88=)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM 005068.3(SIM1):c.226G>A (p.Val76Ile)	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance

NM_005068.2(SIM1):c.-58T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM_005068.3(SIM1):c.-90C>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM_005068.2(SIM1):c.-127T>C	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Benign
NM_005068.2(SIM1):c.-181T>A	SIM1	Obesity due to SIM1 deficiency	Uncertain significance
NM_015100.4(POGZ):c.402_409dup (p.His137fs)	POGZ	Short metacarpal, Hearing impairment, Intellectual disability, Short stature.	Likely pathogenic
NM_152316.3(ARL14EP):c.653G>A (p.Gly218Glu)	ARL14EP	Microcephaly, Truncal obesity, Abnormal facial shape, Global developmental	Likely pathogenic
NM_144596.4(TTC8):c.489G>A (p.Thr163=)	TTC8	Retinal dystrophy, Bardet-Biedl syndrome 8, Retinitis pigmentosa 51,	Conflicting
NM_001079519.1(FAM177A1):c.297dup (p.Trp100fs)	FAM177A1	Mild obesity, Dolichocephaly, Macrocephalus, Intellectual disability	Likely pathogenic
GRCh37/hg19_14q13.2(chr14:35546356-35546423)	FAM177A1	Intellectual disability, Dolichocephaly, Macrocephalus, Mild Obesity	Uncertain significance
NM_001160372.4(TRAPPC9):c.3163G>A (p.Val105Ile)	TRAPPC9	Intellectual disability-obesity-brain malformations-facial dysmorphism	Conflicting
NM_001160372.4(TRAPPC9):c.2809C>T (p.Arg937Ter)	TRAPPC9	Intellectual disability-obesity-brain malformations-facial dysmorphism	Pathogenic
GRCh37/hg19_11p15.1-13(chr11:21586131-33168232)x1	ANO3, PRRG4,	Wilms tumor, aniridia, genitourinary anomalies, mental retardation, and	Pathogenic



## APÊNDICE C

Refinamento de dados. Representando apenas aquelas mutações com significado clínico “patogênico”.

Variante	Gene(s)	Condição(ões)	Significância Clínica
NM_021969.3(NR0B2):c.583G>T (p.Ala195Ser)	NUDC, NR0B2	Obesity, mild, early-onset	Pathogenic
NM_021969.3(NR0B2):c.531del (p.Asp178fs)	NR0B2, NUDC	Obesity	Pathogenic
NM_021969.3(NR0B2):c.100C>T (p.Arg34Ter)	NR0B2, NUDC	Obesity, mild, early-onset	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.5079_5080del (p.Asn1693fs)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4520dup (p.Leu1507fs)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4096C>T (p.Gln1366Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.4050G>A (p.Trp1350Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_020738.4(KIDINS220):c.2712C>G (p.Tyr904Ter)	KIDINS220	Spastic paraplegia, intellectual disability, nystagmus, and obesity	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.4570del (p.Ser1524fs)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.3656+1242A>T	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.3631_3634del (p.Gln1211fs)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.3595del (p.Thr1198_Val1199insTer)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.3571C>T (p.Gln1191Ter)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic

NM_017934.7(PHIP):c.3447T>G (p.Tyr1149Ter)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.3161del (p.Val1053_Leu1054insTer)	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.2744_2747del (p.Lys915fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.2305_2306insGA (p.Pro769fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.1507C>T (p.Arg503Ter)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features, not provided	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.705T>G (p.Tyr235Ter)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.540_541insA (p.Gly181fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.328C>A (p.Arg110Ser)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.298_299del (p.Leu100fs)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_017934.7(PHIP):c.2T>C (p.Met1Thr)	PHIP	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
Single allele	PHIP, IRAK1BP1	Developmental delay, intellectual disability, obesity, and dysmorphic features	Pathogenic
NM_000170.2(GLDC):c.1545G>C (p.Arg515Ser)	GLDC	Global developmental delay, Obesity, Generalized epilepsy, Non-ketotic hyperglycinemia	Pathogenic
NM_006180.4(NTRK2):c.1330G>T (p.Gly444Ter)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Pathogenic
NM_006180.4(NTRK2):c.2159C>T (p.Thr720Ile)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Pathogenic
NM_006180.4(NTRK2):c.2165A>G (p.Tyr722Cys)	NTRK2	Obesity, hyperphagia, and developmental delay	Pathogenic
NM_001195307.1(BBIP1):c.38-1015C>T	BBIP1	Obesity, Postaxial hand polydactyly, Hypogonadotropic hypogonadism 7 with or without anosmia, Micropenis, Rod-cone dystrophy, Round face, Flat nasal alae, Narrow forehead, Specific learning disability, Downslanted palpebral fissures	Pathogenic

NM_003320.4(TUB):c.1355_1356AG[2] (p.Arg453fs)	TUB, RIC3	Retinal dystrophy and obesity	Pathogenic
NM_003356.4(UCP3):c.208C>T (p.Arg70Trp)	UCP3	Obesity, severe, and type II diabetes	Pathogenic
NM_000059.3(BRCA2):c.4936_4939del (p.Glu1646fs)	BRCA2	not provided, Breast-ovarian cancer, familial 2, Hereditary cancer-predisposing syndrome, Asthma, Striae distensae, Nephrolithiasis, Muscle weakness, Ectopic ossification, Obesity, Headache, Short attention spanMigraine, Hereditary breast and ovarian cancer syndrome, Breast-ovarian cancer, familial 1,	Pathogenic
NM_020843.4(SCAPER):c.2806del (p.Thr935_Leu936insTer)	SCAPER	Pigmentary retinopathy, Brachydactyly, Obesity, Intellectual disability, Short stature, Neurological speech impairment	Pathogenic
NM_001126131.2(POLG):c.1268_1269CT[1] (p.Leu424fs)	POLG	not provided, Obesity, Global developmental delay, Generalized epilepsy, Progressive sclerosing poliodystrophy	Pathogenic
GRCh37/hg19 15q11.2(chr15:22765628-23300287)	CYFIP1, NIPA2, TUBGCP5, NIPA1	Hypertensive disorder, Obesity, Abnormal platelet shape, Abnormal platelet morphology, Increased mean platelet volume, Numerous pigmented freckles, Abnormal facial shape, Thrombocytopenia, Abnormal platelet function, Epistaxis	Pathogenic
NM_019023.5(PRMT7):c.1713C>A (p.Cys571Ter)	PRMT7	Insulin resistance, Acanthosis nigricans, Obesity, Hyperlipidemia, Abnormality of the dentition, Short metacarpal, Abnormal facial shape, Lumbar hyperlordosis, Skeletal dysplasia, Renal hypoplasia (disease), Hepatic steatosisShort stature, Self-injurious behavior, Brachydactyly, Intellectual disability, severe	Pathogenic
GRCh37/hg19 16p11.2(chr16:29592783-30190568)	ALDOA, KIF22, MAZ, PPP4C, MAPK3, SPN, TBX6, DOC2A, HIRIP3, TAOK2, MVP, CDIPT, QPRT, SEZ6L2, GDPD3, PAGR1, YPEL3, TLCD3B, PRRT2, TMEM219, C16orf92, KCTD13, ASPHD1, C16orf54, INO80E, ZG16	Obesity, Narrow mouth, Delayed speech and language development	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.896C>A (p.Pro299His)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.838T>C (p.Phe280Leu)	MC4R	Obesity	Pathogenic

NM_005912.3(MC4R):c.835_836dup (p.Phe280fs)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.812G>A (p.Cys271Tyr)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.750_751del (p.Ile251fs)	MC4R	BODY MASS INDEX QUANTITATIVE TRAIT LOCUS 20, Obesity, autosomal dominant, Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.496G>A (p.Val166Ile)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.494G>A (p.Arg165Gln)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.407C>T (p.Ser136Phe)	MC4R	Obesity	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.206T>G (p.Ile69Arg)	MC4R	Obesity, autosomal dominant	Pathogenic
NM_005912.3(MC4R):c.[105C>A;110A>T]	MC4R, MC4R	Obesity	Pathogenic
NM_005912.2(MC4R):c.105C>A (p.Tyr35Ter)	MC4R	not provided, Schizophrenia, Obesity	Pathogenic
GRCh37/hg19 19p13.3(chr19:3976203-4345430)	EEF2, MAP2K2, EBI3, ZBTB7A, SIRT6, PIAS4, STAP2, YJU2, SHD, FSD1, CREB3L3, MPND, TMIGD2, ANKRD24	Obesity, Global developmental delay	Pathogenic
NM_000516.6(GNAS):c.85C>T (p.Gln29Ter)	GNAS	not provided, Pseudohypoparathyroidism type 1B, Obesity, Brachydactyly, Hypocalcemia, Cognitive impairment, Subcutaneous nodule, Round face, Short stature, Tetany, Pseudohypoparathyroidism type 1CPituitary adenoma 3, multiple types, McCune-Albright syndrome, Cushing syndrome, Pseudohypoparathyroidism, Pseudopseudohypoparathyroidism, Progressive osseous heteroplasia, Pseudohypoparathyroidism type 1B	Pathogenic
46;XX;t(2;10)(q22;22.3)dn		Metatarsus valgus, Specific learning disability, Obesity, Diastema, Overbite, Swan neck-like deformities of the fingers, Dysarthria, Delayed speech and language development, Genu valgum, Broad face, Short statureProminent nasal bridge, Deeply set eye, Seizures, Global developmental delay, Strabismus	Pathogenic

46;XX;t(10;15)(q25.2;q11.2)		Obesity, Motor delay, Acromesomelia, Delayed speech and language development, Feeding difficulties, Lipedema, Neonatal hypotonia, Polyhydramnios, Short philtrum, Global developmental delay, Downturned corners of mouth	Pathogenic
46;XX;t(2;11)(q11.2;p13)dn		Sleep disturbance, Obesity, Anxiety, Sleep apnea, Agitation, Motor delay, Emotional lability, Delayed speech and language development, Self-injurious behavior, Overgrowth, DepressivityMild global developmental delay, Macrocephalus	Pathogenic



## APÊNDICE D

Segundo refinamento de dados. Representando apenas mutações com significado clínico “patogênico” que, no quadro clínico, estão diretamente relacionadas à obesidade.

Gene	Troca de nucleotídeos	Troca de aminoácidos	Tipo de mutação
NUDC, NR0B2	c.583G>T	p.Ala195Ser (A195S)	single nucleotide variant
NUDC, NR0B2	c.531del	p.Asp178fs	Deletion
NUDC, NR0B2	c.100C>T	p.Arg34Ter	single nucleotide variant
LEPR	c.2880C>G	p.Asn960Lys (N960K)	single nucleotide variant
-	g.634905T>C	-	single nucleotide variant
FBXO11	c.188C>G	p.Ser63Ter	single nucleotide variant
GHRL, GHRLOS	c.214C>A	p.Leu72Met (L72M)	single nucleotide variant
GHRL, GHRLOS	c.152G>A	p.Arg51Gln (R51Q)	single nucleotide variant
PPARG	c.46_58del	p.Ser17fs	Deletion
BDNF, BDNF-AS	c.557G>A	p.Cys186Tyr (C186Y)	single nucleotide variant
UCP3	c.208C>T	p.Arg70Trp (R70W)	single nucleotide variant
MC4R	c.947T>G	p.Ile316Ser (I316S)	single nucleotide variant
MC4R	c.913C>T	p.Arg305Trp (R305W)	single nucleotide variant
MC4R	c.896C>A	p.Pro299His (P299H)	single nucleotide variant
MC4R	c.838T>C	p.Phe280Leu (F280L)	single nucleotide variant
MC4R	c.835_836dup	p.Phe280fs	Microsatellite
MC4R	c.812G>A	p.Cys271Tyr (C271Y)	single nucleotide variant
MC4R	c.750_751del	p.Ile251fs	Deletion
MC4R	c.750_751del	p.Ile251fs	Deletion
MC4R	c.538T>C	p.Ser180Pro (S180P)	single nucleotide variant
MC4R	c.496G>A	p.Val166Ile (V166I)	single nucleotide variant
MC4R	c.494G>A	p.Arg165Gln (R165Q)	single nucleotide variant
MC4R	c.466C>T	p.Gln156Ter	single nucleotide variant
MC4R	c.449C>T	p.Thr150Ile (T150I)	single nucleotide variant

MC4R	c.449C>T	p.Thr150Ile (T150I)	single nucleotide variant
MC4R	c.407C>T	p.Ser136Phe (S136F)	single nucleotide variant
MC4R	c.206T>G	p.Ile69Arg (I69R)	single nucleotide variant
MC4R	c.181G>A	p.Glu61Lys (E61K)	single nucleotide variant
MC4R	c.181G>A	p.Glu61Lys (E61K)	single nucleotide variant
MC4R	c.[105C>A;110A>T]	-	single nucleotide variant
MC4R	c.21T>C	p.Arg7=	single nucleotide variant

## APÊNDICE E

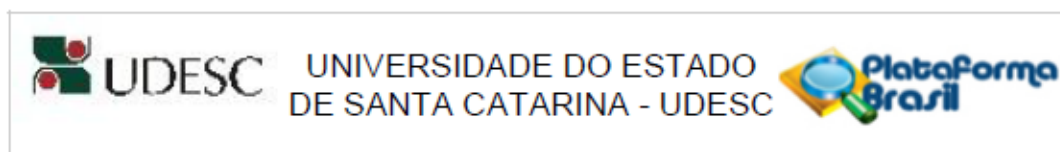
Terceiro refinamento de dados. Representando apenas mutações com significado clínico “patogênico” que, no quadro clínico, estão diretamente relacionadas à obesidade e são *missense*.

Gene	Troca de nucleotídeos	Troca de aminoácidos	Tipo de mutação	Frequência alélica
NUDC, NR0B2	c.583G>T	p.Ala195Ser (A195S)	single nucleotide variant	0.00002(TOPMed)
LEPR	c.2880C>G	p.Asn960Lys (N960K)	single nucleotide variant	0.00003(TOPMed)
GHRL, GHRLOS	c.214C>A	p.Leu72Met (L72M)	single nucleotide variant	0.06848(TOPMed), 0.07207(gnomAD)
GHRL, GHRLOS	c.152G>A	p.Arg51Gln (R51Q)	single nucleotide variant	0.00517(TOPMed), 0.01184(gnomAD)
BDNF, BDNF-AS	c.557G>A	p.Cys186Tyr (C186Y)	single nucleotide variant	-
UCP3	c.208C>T	p.Arg70Trp (R70W)	single nucleotide variant	0.00023(TOPMed), 0.00006(gnomAD)
MC4R	c.947T>G	p.Ile316Ser (I316S)	single nucleotide variant	0.00005(ExAC)
MC4R	c.913C>T	p.Arg305Trp (R305W)	single nucleotide variant	0.00004(TOPMed), 0.00003(gnomAD)
MC4R	c.896C>A	p.Pro299His (P299H)	single nucleotide variant	0.00004(TOPMed), 0.00003(gnomAD)
MC4R	c.838T>C	p.Phe280Leu (F280L)	single nucleotide variant	0.00002(TOPMed), 0.00001(ExAC)
MC4R	c.812G>A	p.Cys271Tyr (C271Y)	single nucleotide variant	-
MC4R	c.538T>C	p.Ser180Pro (S180P)	single nucleotide variant	0.00001(TOPMed)
MC4R	c.496G>A	p.Val166Ile (V166I)	single nucleotide variant	0.00011(TOPMed)
MC4R	c.494G>A	p.Arg165Gln (R165Q)	single nucleotide variant	0.00002(TOPMed), 0.00002(ExAC)
MC4R	c.449C>T	p.Thr150Ile (T150I)	single nucleotide variant	0.00005(TOPMed), 0.00004(ExAC)

MC4R	c.407C>T	p.Ser136Phe (S136F)	single nucleotide variant	-
MC4R	c.206T>G	p.Ile69Arg (I69R)	single nucleotide variant	-
MC4R	c.181G>A	p.Glu61Lys (E61K)	single nucleotide variant	0.00002(TOPMed), 0.00002(ExAC)
DYRK1B	c.304C>T	p.Arg102Cys (R102C)	single nucleotide variant	0.00001(TOPMed), 0.00002(ExAC)
DYRK1B	c.269A>C	p.His90Pro (H90P)	single nucleotide variant	-

## ANEXO 1

### Aprovação do Comitê de Ética (CEPSH)



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** ACOMPANHAMENTO DE PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA BARIÁTRICA: ASPECTOS LABORATORIAIS NOS PERÍODOS PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO

**Pesquisador:** Fabiola Branco Filippin Monteiro

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 24279013.7.0000.0121

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Catarina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 701.185

**Data da Relatoria:** 26/06/2014

##### Apresentação do Projeto:

Esse projeto encontra-se na Versão 3 para adequações de pendências. Anteriormente submetido no CEP da UFSC. Trata o processo de um projeto submetido à Chamada Pública FAPESC número 07/2013 MS DECIT/CNPq/SES-SC. Sob coordenação da Dr<sup>a</sup> Fabiola Branco Filippin-Monteiro, do Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina, que assina a folha de rosto como responsável, junto com o diretor do Hospital Universitário da UFSC.

##### Objetivo da Pesquisa:

###### Objetivo Primário:

Avaliar analitos séricos envolvidos no processo fisiopatológico da obesidade e acompanhá-los durante o processo de reversão da obesidade e de suas comorbidades por meio de aspectos relacionados:

- (i) à inflamação crônica e persistente decorrente da hiperplasia e hipertrofia do tecido adiposo e,
- (ii) as consequências da perda de peso do ponto de vista das adipocinas e citocinas pró-inflamatórias.

Ainda, a partir desta avaliação, elaborar um acompanhamento laboratorial longitudinal dos

**Endereço:** Av. Madre Benvenuta, 2007

**Bairro:** Itacorubi

**CEP:** 88.035-001

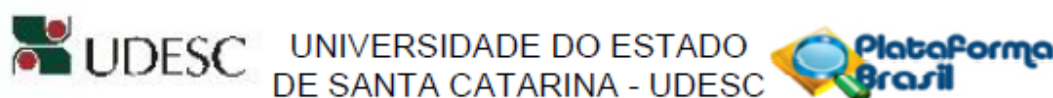
**UF:** SC

**Município:** FLORIANOPOLIS

**Telefone:** (48)3321-8195

**Fax:** (48)3321-8195

**E-mail:** cepsh.reitoria@udesc.br



Continuação do Parecer: 701.165

biomarcadores relevantes ao processo de reversão da obesidade após cirurgia bariátrica de pacientes com obesidade grau III e obesidade mórbida.

**Objetivos Secundários:**

Determinar as concentrações plasmáticas de marcadores inflamatórios e adipocinas no soro dos pacientes nos períodos pré e pós-operatório; Identificar as comorbidades dos pacientes a partir de biomarcadores laboratoriais e reavaliá-los após a cirurgia bariátrica em períodos previamente definidos; Estimar os custos relacionados ao acompanhamento laboratorial dos marcadores gerais e específicos obesidade e de sua reversão após intervenção cirúrgica; Propor um acompanhamento laboratorial direcionado ao processo de obesidade e de suas comorbidades.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

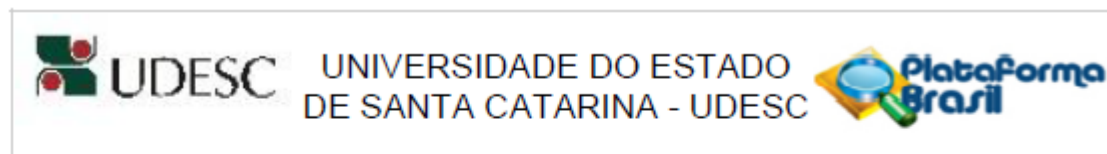
No Projeto Básico da Plataforma Brasil e no TCLE é informado sobre os riscos para os indivíduos participantes da pesquisa, descrevendo-os, bem como as medidas que serão adotadas visando minimizá-los.

Os benefícios são descritos no TCLE como sendo indiretos se considerado o sujeito da pesquisa, uma vez que os "resultados poderão contribuir futuramente para melhor compreensão do processo de emagrecimento e essas informações poderão contribuir para uma melhor abordagem clínica e laboratorial dos pacientes que fazem a cirurgia bariátrica" conclui a pesquisadora. Entretanto, ao realizar a leitura do projeto é possível observar de que haverá benefício direto através dos testes diagnósticos que a pesquisadora propõe efetuar e na afirmação de que esses (testes) poderão indicar novas abordagens terapêuticas. Entretanto, menciona de que o participante receberá os resultados dos exames de sangue e se necessário será encaminhado a equipe médica do HU/UFSC, fazendo entender que se trata de um benefício direto.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa apresenta mérito acadêmico/científico, sendo relevante para a promoção da saúde e prevenção de doenças na área da saúde pública. Encontra-se bem estruturado metodologicamente. Informa que a seleção dos sujeitos da pesquisa, divididos em dois grupos, assim descritos: Grupo de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica = 80 sujeitos com a intervenção de coleta de amostra - sangue e o Grupo de indivíduos saudáveis: 40 sujeitos também com a intervenção através da Coleta de amostra - sangue.

Endereço: Av. Madre Benvenuta, 2007  
 Bairro: Itacorubi CEP: 88.035-001  
 UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
 Telefone: (48)3321-8195 Fax: (48)3321-8195 E-mail: cepsh.reitoria@udesc.br



Continuação do Parecer: 701.185

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Constam na Plataforma os documentos solicitados para a submissão do projeto:

- 1) Folha de rosto devidamente assinada;
- 2) Formulário Projeto da Pesquisa - PB, sem nomear os riscos aos sujeitos participantes da pesquisa; não menciona como e onde serão recrutados os sujeitos saudáveis (40) participantes;
- 3) Projeto de Pesquisa estruturado na íntegra;
- 4) Termo de Consentimento Livre e Esclarecido atendendo ao Parecer CONSUBSTANCIADO do CEP/UFSC;
- 5) Declaração de concordância expedida pela instituição;
- 6) A carta resposta ao CEP sobre as adequações solicitadas no Parecer Consubstanciado número 550.795 emitido em 10/03/2014.
- 7) Carta resposta ao CEP/UEDESC sobre as adequações solicitadas no Parecer Consubstanciado N° 694.974 emitido em 13/06/2014.

**Recomendações:**

Sem recomendação.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

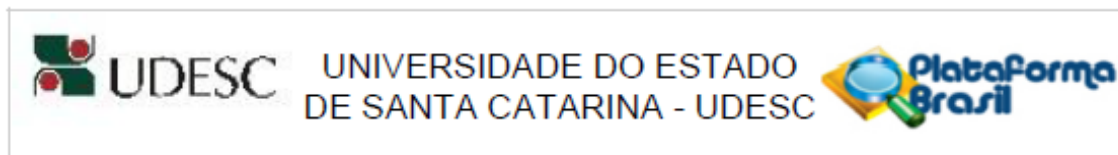
**CUMPRIMENTO AS PENDÊNCIAS:**

De acordo com a Resolução 466/2012 em relação à elaboração do TCLE, devem ser observadas as seguintes condições: Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados. Quanto maiores e mais evidentes os riscos, maiores devem ser os cuidados para minimizá-los e a proteção oferecida pelo Sistema CEP/CONEP aos participantes. Devem ser analisadas possibilidades de danos imediatos ou posteriores, no plano individual ou coletivo. A análise de risco é componente imprescindível à análise ética, dela decorrendo o plano de monitoramento que deve ser oferecido pelo Sistema CEP/CONEP em cada caso específico.

#apesar de ter sido elaborado um novo TCLE, este afirma que "não há riscos além do desconforto da coleta de sangue", desconsiderando outros riscos previstos pela Resolução 466/2012. PENDÊNCIA CUMPRIDA - nas adequações do novo TCLE os riscos são informados e descritas todas as medidas de (dis)estresse que serão tomadas caso ocorra algum desconforto durante a pesquisa na fase de coleta dos dados.

**CUMPRIMENTO DAS NOVAS PENDÊNCIAS:**

Endereço: Av. Madre Benvenuta, 2007  
 Bairro: Itacorubi CEP: 88.035-001  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3321-8195 Fax: (48)3321-8195 E-mail: cepsh.reitoria@udesc.br



Continuação do Parecer: 701.185

a) Informar no Projeto Básico da Plataforma Brasil os riscos e as medidas que serão tomadas para minimizá-los, tal como constatado no TCLE; **PENDÊNCIA CUMPRIDA** ao informar no protocolo do Projeto Básico os riscos inerentes à coleta de sangue e pela entrevista. Descrito quais os desconfortos físicos e emocionais derivados no momento da coleta dos dados, bem como as medidas que serão tomadas visando minimizar ao máximo tais desconfortos.

b) Descrever o local e como serão selecionados os sujeitos saudáveis informado na proposta e no Grupo ID - **PENDÊNCIA CUMPRIDA**. Descrição feita no Projeto detalhado campo: Seleção e recrutamento dos indivíduos voluntários - Indivíduos saudáveis. Informa de que a seleção será efetuada àqueles pertencentes à Comunidade Universitária e serão convidados pela equipe técnica do projeto a participar do estudo pela equipe técnica do projeto e se aceitarem participar da pesquisa, assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

c) Caracterizar e justificar o uso de sujeitos saudáveis - **PENDÊNCIA CUMPRIDA**. Justificativa encontra-se no Projeto detalhado.

d) Rever e inserir no TCLE e no Projeto Básico, por tratar-se de Teste Diagnóstico, os encaminhamentos imediatos dos resultados laboratoriais (sangue) para o médico do paciente e ao próprio paciente, visando atender a Resolução 251/97 item 3.2.i que dispõe sobre pesquisa na área temática de novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos: "o pesquisador responsável deverá dar acesso aos resultados de exame e de tratamento ao médico do paciente e ou próprio paciente sempre que solicitado e ou indicado" solicita-se inserir essa informação ao TCLE e no Projeto Básico. **PENDÊNCIA CUMPRIDA**. Descrito no projeto detalhado, no projeto básico e no de que o participante receberá os resultados do exame de sangue, assim informado; "todos os resultados dos exames que iremos realizar serão disponibilizados ao(a) Senhor(a) e, se necessário, será (a) o senhor (a) será encaminhado para a equipe médica da Unidade do HU/UFSC para acompanhamento".

**Situação do Parecer:**

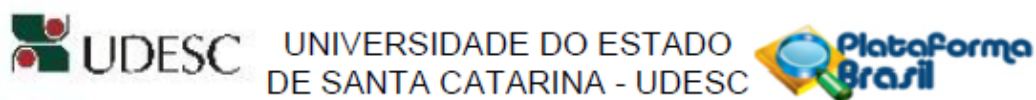
Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Av. Madre Benvenuta, 2007		CEP: 88.035-001
Bairro: Itacorubi		
UF: SC	Município: FLORIANOPOLIS	
Telefone: (48)3321-8195	Fax: (48)3321-8195	E-mail: cepsh.reitoria@udesc.br





Continuação do Parecer: 701.185

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Colegiado Aprova o Parecer da Relatoria.

FLORIANOPOLIS, 27 de Junho de 2014

---

**Assinado por:**  
**Luciana Dornbusch Lopes**  
**(Coordenador)**

Endereço: Av.Madre Benvenutta, 2007  
Bairro: Itacorubi CEP: 88.035-001  
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
Telefone: (48)3321-8195 Fax: (48)3321-8195 E-mail: cepsh.reitoria@udesc.br

## ANEXO 2

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O(a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa. Antes de decidir se deseja participar, é importante que o(a) Senhor(a) entenda porque esta pesquisa está sendo realizada. Por favor, leia com atenção todas as informações e se desejar, discuta com sua família, para que a sua participação possa ser uma decisão bem informada.

Este impresso contém informações para a participação voluntária do(a) Senhor(a) neste estudo, que servirá para avaliar os melhores exames a serem realizados durante o tratamento da obesidade. A obesidade grave é tratada com cirurgia de redução de estômago e de modificação do intestino. O acompanhamento por diversos médicos se faz necessário antes e depois do procedimento. Mas, atualmente, o acompanhamento de exames de laboratório (os exames de sangue) desses pacientes precisa ser melhorado para que o tratamento seja eficiente. A fim de avaliar os melhores exames laboratoriais no acompanhamento nos períodos antes e depois da cirurgia bariátrica no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), gostaríamos de convidá-lo a participar do estudo intitulado “Acompanhamento de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica: aspectos laboratoriais nos períodos pré e pós operatório”.

**Qual objetivo deste estudo?** Nós esperamos que este estudo ajude no acompanhamento dos pacientes que fazem a cirurgia para o tratamento da obesidade para a diminuição das complicações e os custos hospitalares neste serviço de saúde.

**Eu tenho que participar?** Cabe ao Senhor(a) decidir se irá ou não participar. Mesmo que o(a) Senhor(a) não queira participar do estudo, o(a) Senhor(a) não terá nenhuma desvantagem em relação ao tratamento médico e aos cuidados que tenha direito a receber. Se decidir participar, o(a) Senhor(a) irá assinar este Termo de Consentimento. Mesmo após ter assinado, é garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento no HU/UFSC. Caso aceite participar, será coletada uma amostra de sangue do(a) Senhor(a) no HU/UFSC para avaliação laboratorial. Além disso, seus dados de prontuário serão utilizados para a pesquisa.

**Existem riscos ou desconfortos associados com a participação?** Sim, existem os riscos de procedimentos de coleta de sangue, possíveis constrangimentos durante a entrevista e/ou quebra de confidencialidade dos dados coletados. No entanto, estes riscos serão potencialmente reduzidos pelos pesquisadores: A coleta de sangue será realizada em ambiente adequado e pela equipe da pesquisa que tomará todos os cuidados necessários para que o (a) Senhor(a) tenha o mínimo de desconforto. Apesar disto, poderá haver a possibilidade de formação de hematoma (manchas escuras) e sensação dolorosa no local da coleta. Se isso acontecer, a equipe da pesquisa tomará as medidas necessárias para diminuir este desconforto. A entrevista para a coleta de algumas informações (uso de medicamentos, hábitos alimentares e situação socioeconômica) será realizada em ambiente tranquilo e discreto, sempre respeitando a individualidade e as necessidades de cada paciente. Será assegurado o direito a não responder a qualquer pergunta se achar que ela é muito pessoal ou se sentir desconfortável em falar. Os dados retirados do prontuário médico serão armazenados e manuseados com todo cuidado somente pelos pesquisadores para reduzir o risco de quebra de sigilo.

**Meus dados serão divulgados?** Se o(a) Senhor(a) estiver de acordo em participar do estudo, as informações fornecidas serão confidenciais e só serão utilizadas neste trabalho com a finalidade de gerar conhecimento em saúde. Apenas o

pesquisador e os colaboradores terão acesso aos dados. Não serão tiradas fotos, nem realizadas filmagens ou qualquer tipo de gravação. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

**Quais são os benefícios esperados com a pesquisa para o participante?**

Mesmo que o(a) senhor(a) não se beneficie diretamente com os resultados da pesquisa, informo-lhe que estes resultados poderão contribuir futuramente para melhor compreensão do processo de emagrecimento e essas informações poderão contribuir para uma melhor abordagem clínica e laboratorial dos pacientes que fazem a cirurgia bariátrica. Ainda, todos os resultados dos exames que iremos realizar serão disponibilizados ao(a) Senhor(a) e, se necessário, será (a) o senhor (a) será encaminhado para a equipe médica da Unidade do HU/UFSC para acompanhamento.

**Terei custos se participar?** Não há despesas pessoais para o(a) Senhor(a) em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação na pesquisa.

**Com quem devo entrar em contato se necessitar de mais informações?** Este estudo está sendo realizado no HU/UFSC, situado no bairro Trindade, município de Florianópolis - SC. A pesquisadora principal é farmacêutica e professora do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os principais investigadores são as Professoras Fabíola Monteiro e Liliete Souza, que podem ser encontrados no Departamento de Análises Clínicas do Centro de Ciências da Saúde da UFSC, pelos telefones (48) 3721-9712 e 9911-4480, ou através do e-mail: fabiola.monteiro@ufsc.br.

Ainda, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC encontra-se Biblioteca Universitária Central - Setor de Periódicos (térreo), Pró-Reitoria de Pesquisa, Campus Universitário, Trindade, ou pelo contato telefônico (48) 3721-9206, ou e-mail cep.propesq@contato.ufsc.br.

Segue os termos da declaração para poder participar do estudo:

Eu, \_\_\_\_\_ confirmo que:

Recebi informações sobre o estudo acima, além disso, li e entendi todas as informações fornecidas sobre minha participação nesta pesquisa. Tive a oportunidade de discutí-las e fazer perguntas. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas satisfatoriamente e eu voluntariamente concordo em participar deste estudo. Estou ciente de que doarei uma amostra de sangue, a qual será destinada para a pesquisa. Entendo que receberei uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Concordo em participar deste estudo.

\_\_\_\_\_  
Paciente ou representante legal

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Data

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

\_\_\_\_\_  
Fabíola Branco Filippin Monteiro  
Responsável pelo estudo  
CPF 027.645.219-44

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_