

**UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO “PROFESSOR JOSÉ DE SOUZA HERDY”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA TRANSLACIONAL**

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em
Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE GENES DE
MEDIADORES INFLAMATÓRIOS POTENCIALMENTE
ASSOCIADOS À OBESIDADE EM UMA AMOSTRA DE
INDIVÍDUOS DA BAIXADA FLUMINENSE.**

Patrick Rodrigues de Lima

Duque de Caxias

2024

**Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”
(UNIGRANRIO)**

**Análise de polimorfismos de genes de mediadores
inflamatórios potencialmente associados à obesidade em
uma amostra de indivíduos da baixada fluminense.**

PATRICK RODRIGUES DE LIMA

Dissertação de mestrado apresentado à Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO como requisito para obtenção do grau de mestre em biomedicina translacional.

Orientadora: Dra. Danielle Dutra Voigt

Dra. Ana Carolina P. da Fonseca

Dra. Tamara Silva

Duque de Caxias - RJ

2024

**CATALOGAÇÃO NA FONTE UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE
BIBLIOTECAS**

L732a Lima, Patrick Rodrigues de.

Análise de polimorfismos de genes de mediadores inflamatórios potencialmente associados à obesidade em uma amostra de indivíduos da baixada fluminense / Patrick Rodrigues de Lima. – Duque de Caxias, Rio de Janeiro, 2024.
53 f.

Orientadora: Dra. Danielle Dutra Voigt

Orientadora: Dra. Ana Carolina P. da Fonseca

Orientadora: Dra. Tamara Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciência da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, Rio de Janeiro, 2024.

1. Obesidade. 2. Lipoinflamação. 3. Polimorfismos. I. Voigt, Danielle Dutra. II. Fonseca, Ana Carolina P. da. III. Silva, Tamara. IV. Título. V. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”.

CDD: 610

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às 10 horas, do dia 08 de abril de 2024, o Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, realizou sessão de Defesa da Dissertação versando sobre o projeto intitulado "Análise de polimorfismos de genes de mediadores inflamatórios potencialmente associados à obesidade em uma amostra de indivíduos da baixada fluminense", de autoria de Patrick Rodrigues de Lima, aluno do Mestrado Acadêmico, sob orientação da Professora Ana Carolina Proença da Fonseca e coorientação das Professoras Danielle Dutra Voigt e Tamara Silva. A sessão foi aberta pela Profa. Eidy de Oliveira Santos, presidente da Comissão, que nos termos regimentais convocou os demais Membros da Comissão Examinadora: Profa. Gabriella de Medeiros Abreu e Profa. Clarissa Menezes Maya Monteiro. Em seguida, passou à palavra o candidato para apresentação de seu trabalho. Após a apresentação, o candidato foi arguido pelos examinadores e suas respostas foram consideradas satisfatórias.

A presidente declarou o mestrando Patrick Rodrigues de Lima Aprovado, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas, de acordo como o Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional do convênio tripartite entre UNIGRANRIO, INMETRO e UERJ. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a sessão, em que foi lavrada a presente ata, que será assinada pelos Membros da Comissão Examinadora.

Duque de Caxias, 08 de abril de 2024.

Profa. Dra. Eidy de Oliveira Santos
Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ
Presidente da banca

Profa. Dra. Gabriella de Medeiros Abreu
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Profa. Dra. Clarissa Menezes Maya Monteiro
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Prof. Dr. Sergian Vianna Cardozo
Coordenador Geral

Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional - BIOTRANS

Prof. Dr. Sergian Vianna Cardozo
Coordenador do PPG em Biomedicina
Translacional - BIOTRANS
UNIVERSIDADE
UNIGRANRIO

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



(i) Aprovado com Ressalvas e Modificações

Comentários:

Não há nenhuma modificação que precise ser revista pela banca.

Presidente:

Resumo

A obesidade é caracterizada como um acúmulo excessivo de gordura no corpo, resultante de um desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto corporal de energia, de forma prolongada. A obesidade é considerada uma doença crônica e multifatorial, sendo influenciada por fatores ambientais e genéticos. Além disso, esta doença é um fator de risco para outras comorbidades, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus* tipo 2, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica. Segundo a “*World Obesity Federation*” existem cerca de 2,6 bilhões de adultos acima do peso, com aproximadamente 988 milhões considerados com fenótipo de obesidade. O índice de obesidade triplicou desde 1975 até 2016 estimando-se que até 2025 existam cerca de 1 bilhão de adultos com esta doença no mundo. Quando há um superávit no balanço energético, o excedente é armazenado no tecido adiposo branco subcutâneo, especialmente. Quando o tecido adiposo subcutâneo esgota sua capacidade de armazenamento ou é incapaz de armazenar adequadamente esse excesso de energia, a gordura visceral se acumula, a qual tem uma capacidade adipogênica menor e cresce por hipertrofia, aumentando o tamanho dos adipócitos. Estudos anteriores demonstram que ocorre em indivíduos com obesidade uma remodelação do tecido adiposo, tanto estruturalmente quanto funcionalmente, iniciando um processo inflamatório. Quando essa inflamação aguda não se resolve é desencadeada um processo inflamatório crônico de baixo grau a nível local. No entanto, com a repercussão sistêmica, (lipoinflamação), os indivíduos com obesidade apresentam um aumento no nível de proteínas inflamatórias circulantes, por meio da síntese dessas citocinas, como IL-6, IL-1, leptina e TNF- α . Os polimorfismos nas regiões que codificam essas citocinas podem tornar o indivíduo mais propenso à obesidade e/ou doenças e condições relacionadas às alterações metabólicas que ocorrem na obesidade. Portanto, este trabalho visa contribuir para o entendimento das interações entre diferentes polimorfismos de genes da resposta inflamatória e sua possível relação com a obesidade e fenótipos relacionados. Para alcançar nossos objetivos foi utilizada a técnica de PCR em tempo real (*Real-Time PCR*) com a finalidade de genotipar as amostras de DNA extraído de indivíduos da baixada fluminense (n=344). Para realizar as análises as amostras foram divididas em dois grupos baseadas em seu IMC: Controle (n=219) composto por indivíduos com peso normal e sobrepeso e casos: (n=125) composto por indivíduos com obesidade grau I,II e III. A partir dos resultados obtidos foram utilizados de métodos estatísticos para correlacionar a presença ou não dos polimorfismos rs1800587 (*IL1A*), rs13032029 (*IL1B*) e rs2069837 (*IL6*) com níveis circulantes de variáveis bioquímicas como colesterol, glicose e triglicerídeos e com variáveis antropométricas como IMC e pressão arterial. Nossos resultados apontaram que os polimorfismos rs1800587 e rs2069837 possuem uma influência nos níveis de colesterol (Total, LDL e VLDL) e triglicerídeos e o polimorfismo rs13032029 associado com uma maior circunferência de cintura e desenvolvimento de obesidade.

Palavras-chave: Obesidade, lipoinflamação, polimorfismos, rs1800587 (*IL1A*), rs13032029 (*IL1B*), rs2069837 (*IL6*), rs3024497 (*IL10*).

Abstract

Obesity is characterized as an excessive accumulation of fat in the body (adipose tissue), resulting from an imbalance between food intake and body energy expenditure. Calories are obtained through the oxidation of carbohydrates, fatty acids and amino acids. Obesity is currently considered a chronic and multifactorial disease, influenced by environmental and genetic factors. In addition, obesity is a risk factor for other diseases such as hypertension, type 2 diabetes, cardiovascular disease and metabolic syndrome. According to the World Obesity Federation, there are around 2.6 billion overweight adults, with approximately 988 million considered obese. The obesity rate has tripled since 1975 to 2016 and it is estimated that by 2025 there will be around 1 billion obese adults in the world. When there is a surplus in the energy balance, the excess is stored in the subcutaneous adipose tissue. When the subcutaneous adipose tissue exhausts its storage capacity or is unable to store this excess energy properly, visceral fat accumulates, which has a lower adipogenic capacity and grows by hypertrophy, by increasing the size of the adipocytes. Therefore, the increase in hyperplasia and hypertrophy of these adipocytes is associated with deregulation of adipose tissue. It has been shown that in obese individuals there is a remodeling of adipose tissue, both structural and functional, which causes an inflammatory reaction. When this acute inflammation does not resolve, a chronic low-grade inflammatory reaction is triggered at a local level, but with systemic repercussions, known as lipoinflammation. Obese individuals show an increase in the level of circulating inflammatory proteins, with excess adipose tissue being one of the possible causes of this alteration, since this tissue is responsible for the synthesis of pro-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-1, leptin and TNF- α . Polymorphisms in the regions that code for these cytokines can make individuals more prone to obesity and/or diseases and conditions related to the metabolic changes that occur in obesity. Therefore, this study aims to contribute to the understanding of interactions between different gene polymorphisms of the inflammatory response and their possible relationship with obesity and related phenotypes. To achieve our objectives, the technique of Real-Time PCR was used to genotype the extracted DNA samples. For the analyses, the samples were divided into two groups based on their Body Mass Index (BMI): Control group (n=219), composed of individuals with normal weight and overweight, and Cases group (n=125), composed of individuals with obesity grade I, II, and III. Statistical methods were then employed to correlate the presence or absence of the rs1800587 (*IL1A*), rs13032029 (*IL1B*), and rs2069837 (*IL6*) polymorphisms with circulating levels of biochemical variables such as cholesterol, glucose, and triglycerides, as well as with anthropometric variables such as BMI and blood pressure. Our results indicate that the rs1800587 and rs2069837 polymorphisms are related to cholesterol (Total, LDL and VLDL) and triglyceride levels, and the rs13032029 polymorphism is associated with increased waist circumference and obesity development.

Keywords: Obesity, lipoinflammation, polymorphisms, rs1800587 (*IL1A*), rs13032029 (*IL1B*), rs2069837 (*IL6*), rs3024497 (*IL10*).

Lista de ilustrações

Figura 1: Mapa de prevalência de obesidade no mundo

Figura 2: Esquema da interação obesidade-inflamação-síndrome metabólica

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Gráfico do índice de obesidade na população brasileira (1975-2016)

Gráfico 2: Representação gráfica da amplificação dos alelos na *Real-Time* PCR

Gráfico 2.1: Representação de um genótipo heterozigoto

Gráfico 2.2: Representação de um homozigoto selvagem

Gráfico 2.3: Representação de um homozigoto mutado

Gráfico 3: Comparação da frequência (em %) do alelo A do polimorfismo rs1800587 presente no gene *IL1A* entre diferentes populações

Gráfico 4: Comparação da frequência (em %) do alelo T do polimorfismo rs13032029 presente no gene *IL1B* entre diferentes populações

Gráfico 5: Comparação da frequência (em %) do alelo G do polimorfismo rs2069837 presente no gene *IL6* entre diferentes populações

Lista de Tabelas

Tabela 1: Parâmetros de referência para a classificação do IMC

Tabela 2: Parâmetros de referência para a classificação de síndrome metabólica

Tabela 3: Genes (IL) com sua respectiva variante (rs) e sondas empregadas no estudo.

Tabela 4: Comparação da distribuição das variáveis quantitativas em relação à obesidade.

Tabela 5: Genótipos/Alelos x Obesidade

Tabela 6: Genótipos/Alelos x Hipertensão

Tabela 7: Genótipos/Alelos x Glicemia elevada

Tabela 8: Genótipos/Alelos x Colesterol total elevado

Tabela 9: Genótipos/Alelos x LDL elevado

Tabela 10: Genótipos/Alelos x VLDL elevado

Tabela 11: Genótipos/alelos x HDL reduzido

Tabela 12: Genótipos/alelos x Triglicérides elevado

Tabela 13: Influência do polimorfismo *IL1A* rs1800587 nas variáveis antropométricas, bioquímicas e pressóricas

Tabela 14: Influência do polimorfismo *IL1B* rs13032029 nas variáveis antropométricas, bioquímicas e pressóricas

Tabela 15: Influência do polimorfismo *IL6* rs2069837 nas variáveis antropométricas, bioquímicas e pressóricas

Lista de abreviações

AP-1 -Proteína ativadora 1	LDL - Lipoproteína de baixa densidade
CC - Circunferência de cintura	MB – Microbiota
Col T – Colesterol total	NF-KB - fator nuclear kappa B
CP - Circunferência de pescoço	OR – Estimativa de risco
CQ - Circunferência de quadril	OxS – Estresse oxidativo
CRP - Proteína C-reativa	PA - Pressão arterial
NAFLD – doença hepática gordurosa não alcoólica	PAD - Pressão arterial diastólica
F - Razão de F	PAS - Pressão arterial sistólica
FFA – Ácidos graxos livres	PCR - Reação em cadeia da polimerase
gl – Graus de liberdade	PKC - Proteína kinase
HDL - Lipoproteína de alta densidade	QM – Quadrado médio
IC(95%) - Intervalo de confiança (95%)	RCQ - Razão cintura/quadril
IKK – Inibidor de fator nuclear kappa B	ROS - Espécie reativa de oxigênio
IL-n – Interleucinas	SFA - Ácidos graxos saturados
IMC - Índice de massa corporal	SQ – Soma dos quadrados
IR - Resistência insulínica	TAG – Triglicerídeos
JNK - c-Jun N-terminal kinase	TNF – Fator de necrose tumoral
TLR – Receptor do tipo TOLL ou TOLL like	VLDL - Lipoproteína de densidade muito baixa

Sumário

1 Introdução	1
1.1 Epidemiologia da Obesidade	1
1.2 Obesidade, causas e comorbidades	4
1.3 Tecido adiposo	5
1.4 Obesidade e inflamação	6
1.5 Genes candidatos	10
2 Justificativa	13
3 Objetivos	14
4 Materiais e métodos	15
4.1 Amostras	15
4.2 Avaliação das características clínicas	15
4.3 Avaliação bioquímica	17
4.4 Avaliação para comorbidades	17
4.5 Avaliação genético-molecular	18
4.6 Análise estatística	21
5 Resultados	22
5.1 Análise descritiva	22
5.2 Associação entre os polimorfismos e o desenvolvimento de obesidade	24
5.3 Análise dos polimorfismos em relação à suscetibilidade à hipertensão arterial sistêmica	25
5.4 Análise dos polimorfismos em relação as condições elevadas nas variáveis bioquímicas	26
5.5 Análise do efeito dos polimorfismos estudados em relação a variação dos parâmetros bioquímicos, antropométricos e pressóricos	31
5.6 Frequência alélica entre populações	35
6 Discussão	37
7 Conclusões	40
8. Referências Bibliográficas	41

1. INTRODUÇÃO

1.1 - Epidemiologia da Obesidade

A obesidade é considerada uma doença crônica e multifatorial, caracterizada como um acúmulo excessivo de gordura no corpo resultante de um desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto corporal de energia de forma prolongada (LOBSTEIN *et al.*, 2022). Esta doença surge da interação entre os fatores ambientais e genéticos (DIELS *et al.*, 2020). Além disso, a obesidade é um fator de risco para outras doenças como hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares, doenças renais, alguns tipos de câncer e síndrome metabólica. Ademais, esses indivíduos podem sofrer com estigmas sociais e preconceitos que podem levar ao desenvolvimento de ansiedade e depressão (SWINBURN *et al.*, 2011; Global Burden of Disease., 2017; DE SOUZA OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Em 2017, 8% de todas as mortes no mundo foram associadas à obesidade, estimando um total de cerca de 4,7 milhões de pessoas. No Brasil, o número de mortes relacionada a obesidade atingiu 12% em 2019 (HANNA RITCHIE e MAX ROSER., 2017). A principal causa de morte relacionada à essa patologia é devido ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, representando 41% dos casos (Global Burden of Disease., 2017). Além disso, a obesidade aumenta o risco de problemas durante a gestação, como por exemplo o nascimento prematuro, complicações no parto, risco de mortalidade materna, bem como aumentar os riscos dos filhos desenvolverem problemas cardíacos, DM2 e obesidade (LANGLEY-EVANS *et al.*, 2022; LI *et al.*, 2017

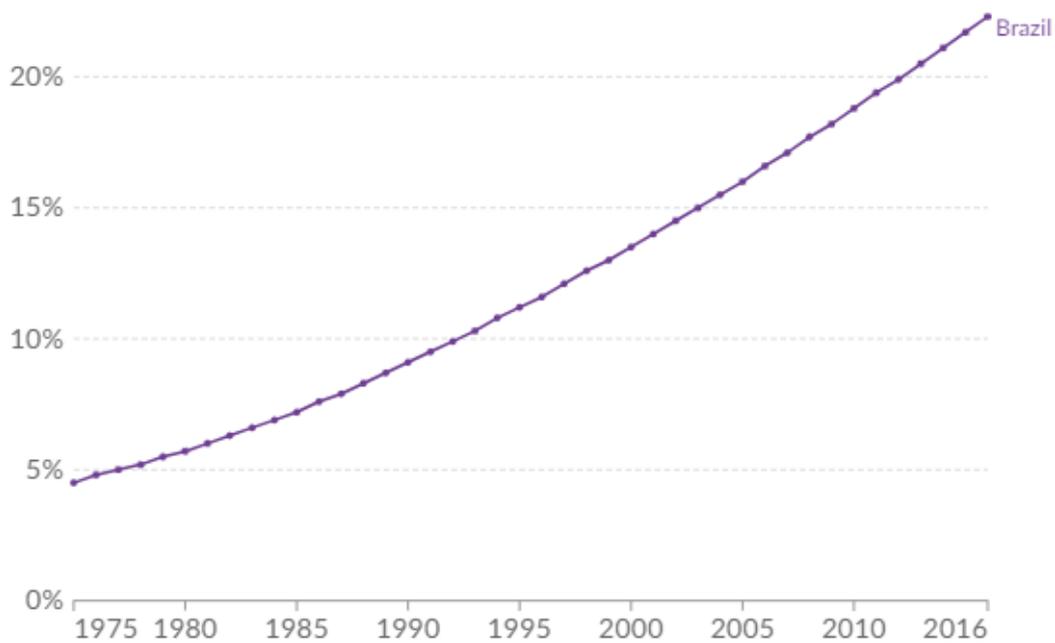
Nos últimos anos, a obesidade revelou-se como um problema de saúde pública grave em todo o mundo. A prevalência de obesidade praticamente triplicou desde 1975 até 2016, e estima-se que até 2025 existam cerca de 1 bilhão de adultos com essa doença no mundo (*World Obesity Federation, World obesity, atlas 2023*). No Brasil, os índices seguem a mesma tendência com um índice de 4,5% em 1975 para 22,3% em 2016 (Gráfico 1) (WHO., 2022). Segundo a “*World Obesity Federation*” existem cerca de 2,6 bilhões de adultos com sobrepeso, com aproximadamente 988 milhões considerados com obesidade (Figura 1).

Entre crianças e jovens (<20 anos), a obesidade vem crescendo ao longo do tempo, e estima-se uma prevalência mundial em torno de 5% (FERREIRA *et al.*, 2021). A relação entre os pais e a obesidade infantil é evidente, uma vez que eles desempenham um papel fundamental tanto nos fatores genéticos quanto nos maus hábitos alimentares, pois são

responsáveis pela alimentação nos primeiros anos de vida da criança (DE SOUZA OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Gráfico 1: Índice de obesidade na população brasileira (1975-2016). O gráfico mostra o percentual (%) de indivíduos com obesidade na população brasileira entre os anos de 1975 e 2016, apresentando um aumento de 4,5%, para 22,3%, respectivamente.

Fonte: WHO, Global Health Observatory (2022)



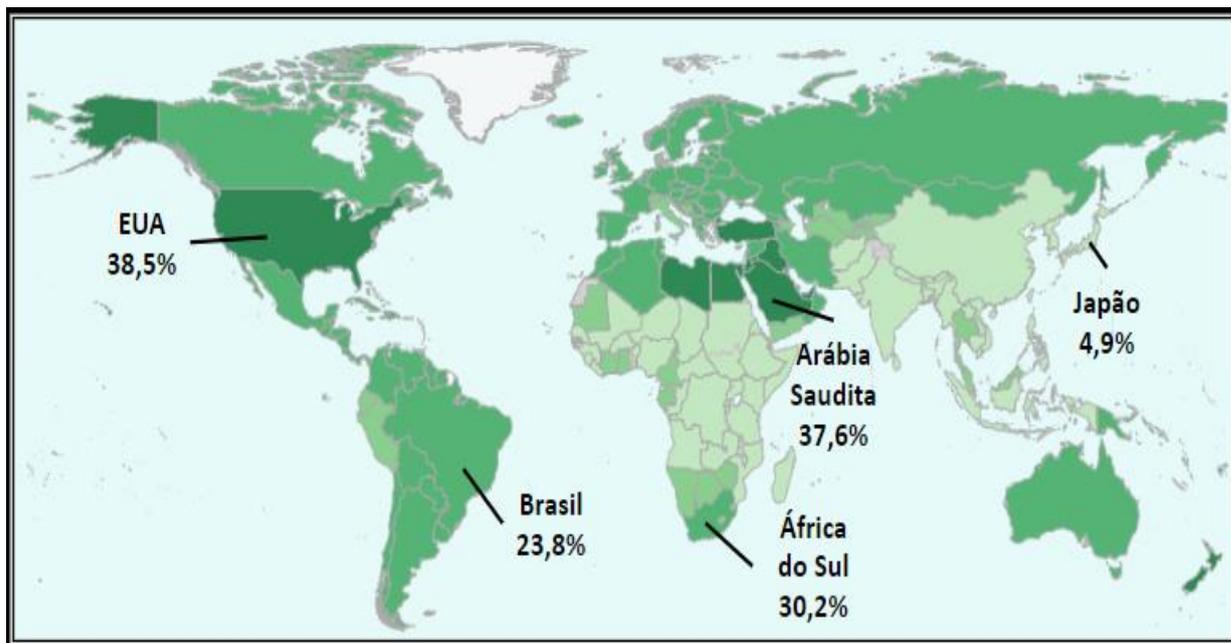


Figura 1: Mapa de prevalência de obesidade no mundo. O mapa mostra o percentual (%) de indivíduos com obesidade na população dos EUA, Brasil, Arábia Saudita, Japão e África do Sul. Fonte: adaptado de World Obesity Federation, 2023.

1.2 Obesidade, causas e comorbidades

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo. Este excesso, em alguns casos, tem como consequência um processo inflamatório no tecido adiposo, no qual temos uma infiltração de células do sistema imunológico, acarretando o aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias e na diminuição da secreção de anti-inflamatórias (CORVERA *et al.* 2022; RAMÍREZ-MORENO *et al.*, 2022). Com a melhora nas condições de vida, aumento do tempo ocioso e maior oferta e acesso aos alimentos, notou-se um aumento da prevalência de obesidade na população mundial. Todos esses fatores que englobam a escolha de alimentos hipercalóricos, estilo de vida e outros fatores sociais/culturais influenciam para a formação de um ambiente obesogênico (BRAY, 2014; DANTAS e SILVA., 2019).

Estudos demonstram que fatores genéticos podem influenciar no desenvolvimento da obesidade (GOODARZI, *et al.*, 2018; ROHDE *et al.*, 2019; TRANG *et al.*, 2023). Sendo assim, com base nas características genéticas e fenotípicas a obesidade pode ser classificada em diferentes tipos: monogênica síndrômica, monogênica não-síndrômica e poligênica (LOOS *et al.*, 2022; CUMMINGS e SCHWARTZ, 2003).

A obesidade monogênica resulta de modificações em um único gene, sendo essas raras. Entre essas formas, destacam-se duas categorias: a síndrômica e a não síndrômica. A maioria delas é caracterizada por um início precoce e fenótipos extremamente marcantes (FAROOQI & O'RAHILLY, 2005; LOOS *et al.*, 2022). Na obesidade monogênica não síndrômica, a maioria dos genes envolvidos codificam proteínas que desempenham um papel fundamental na via de sinalização leptina-melanocortina, localizada no hipotálamo, afetando a regulação do consumo de alimentos e gasto de energia (FAROOQI & O'RAHILLY, 2008; ROHDE *et al.*, 2019). As formas síndrômicas manifestam-se em um conjunto de fenótipos clínicos associados, que podem incluir déficit intelectual ou desenvolvimento anormal de órgãos específicos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015; VOS *et al.*, 2020).

A forma mais comum de obesidade resulta da interação de diversos *loci* gênicos, sendo os mecanismos moleculares envolvidos muito complexos. Em teoria, sua base genética implica em um conjunto específico de variantes relevantes para obesidade, ou seja, aquelas que conferem predisposição e que variam entre os indivíduos (WALLEY *et al.*, 2009; ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

Em contraste com a obesidade monogênica, a obesidade poligênica depende da interação de diversas variantes que podem contribuir para uma maior suscetibilidade. No

entanto, esta é influenciada por outros fatores, como um ambiente propício ao desenvolvimento do fenótipo associado à desregulação do tecido adiposo (IZAOLA et al., 2015).

1.3 Tecido adiposo

O tecido adiposo é um importante regulador dos níveis sistêmicos de energia que, por muito tempo, foi considerado apenas um depósito passivo dessa energia. Com a descoberta de que as células do tecido adiposo também exercem função secretora, este é atualmente reconhecido como um órgão endócrino e parácrino ativo (KERSHAW e FLIER, 2004; TAYLOR e ERIN, 2021). O tecido adiposo é um órgão dinâmico distribuído por todo o corpo e com capacidade de expandir-se, principalmente durante a obesidade. Este tecido possui dois tipos principais: branco e marrom (KOENEN et al., 2021).

O tecido adiposo marrom (TAM) é caracterizado por ser multilocular, armazenar pequenas gotículas lipídicas em seu interior e ser rico em mitocôndrias. Essas gotículas de gordura são utilizadas principalmente na termogênese, contribuindo para a produção de calor. Este tecido encontra-se nas regiões axilar e interescapular, sendo mais abundante em recém-nascidos, mas também presente em menor quantidade em adultos (TRAYHURN, 2007; IKEDA et al., 2018).

O tecido adiposo branco (WAT) encontra-se em depósitos subcutâneos e viscerais. Este é caracterizado por ser unilocular, ou seja, armazena os triglicerídeos em forma de uma única e grande gota lipídica dentro da célula - fonte de energia a longo prazo. Além disso, o WAT secreta adipocinas, como a leptina e a adiponectina (TRAYHURN e WOOD, 2004). O acúmulo deste tipo de tecido adiposo na região visceral é amplamente associado ao risco de desenvolvimento de doenças cardiometabólicas (KOENEN et al., 2021).

Durante a obesidade, os adipócitos brancos se expandem para armazenar o excesso de gordura. Essas variações na distribuição e nas características do tecido podem ter implicações significativas para a saúde metabólica e o risco de doenças relacionadas à obesidade (MARCELIN, et al., 2020).

O tecido adiposo pode se expandir através de dois mecanismos diferentes: hiperplasia e hipertrofia (CORVERA *et al.*, 2022; UNAMUNO *et al.*, 2018; LONGO *et al.*, 2019) A hiperplasia envolve a diferenciação “*de novo*” dos adipócitos a partir de células progenitoras, resultando em uma massa aumentada de tecido adiposo composta

por numerosos e pequenos adipócitos. Este tipo de expansão ocorre majoritariamente durante o desenvolvimento do tecido e está ligado a fatores genéticos que influenciam o número de células progenitoras e capacidade de diferenciação desses adipócitos (CORVERA et al., 2022). A expansão hipertrófica ocorre principalmente após o desenvolvimento desses adipócitos e está relacionada com a capacidade dessas células de capturar e reter lipídios circulantes (SERRA et al., 2015). Entre estes, o grau de hipertrofia é o que está mais associado ao fator de risco para o desenvolvimento de alterações metabólicas (HEINONEN et al., 2015).

1.4 Obesidade e inflamação

A inflamação é uma resposta do organismo a infecções e/ou lesões nos tecidos, e através desse processo que é possível reparar os danos causados. Nesse processo estão envolvidas células do sistema imune, e citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. É importante ressaltar que tanto o sistema imunológico quanto outras células de diferentes tecidos, como o adiposo e o músculo esquelético, podem secretar essas moléculas, contribuindo para regular a resposta inflamatória no organismo (MONTEIRO e AZEVEDO, 2010; WANG., 2018). A resolução de um processo inflamatório é uma etapa complexa que envolve a regulação de mediadores lipídicos derivados do metabolismo dos ácidos graxos poli-insaturados essenciais, ácidos graxos essenciais e mediadores bioquímicos. Sendo assim, estas moléculas podem atuar como potentes agentes anti-inflamatórios e pró-inflamatórios (IZAOLA et al., 2015).

É importante ressaltar, que existem processos diretamente ligados à hipertrofia dos adipócitos, e estudos em animais e humanos mostraram que nas primeiras etapas da expansão por hipertrofia do tecido adiposo surgem zonas de hipóxia, ou seja, tecido sem ou com baixa oxigenação (SUN et al., 2011). Essa condição pode desempenhar um papel significativo nas mudanças e adaptações que ocorrem no tecido adiposo durante o processo de obesidade. As causas para esta baixa oxigenação têm sido atribuídas a uma vascularização deficiente do tecido, devido a sua expansão e a um aumento na demanda de oxigênio pelos adipócitos hipertrofiados (MICHAILIDOU et al., 2019). Os adipócitos que sofrem com hipóxia apresentam um perfil alterado de produção de adipocinas como: fator de inibição de migração de macrófagos (MIF), leptina, IL-6 e outras moléculas pró-inflamatórias (LEHR et al., 2012; LIU et al., 2020).

A sobrecarga metabólica tem impacto significativo no tecido adiposo, levando ao stress das organelas, à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de adipocinas,

bem como à ativação de quinases que potencializam a transcrição de genes inflamatórios. A maioria dos metabólitos e citocinas em excesso produzidos ao longo destes processos convergem para a resistência à insulina, que é uma característica central da síndrome metabólica. A hipertrofia dos adipócitos torna-os mais propensos a ruptura e a liberação de seu conteúdo, o que atrai e ativa os macrófagos, contribuindo significativamente para o processo inflamatório (Figura 2) (MONTEIRO e AZEVEDO, 2010).

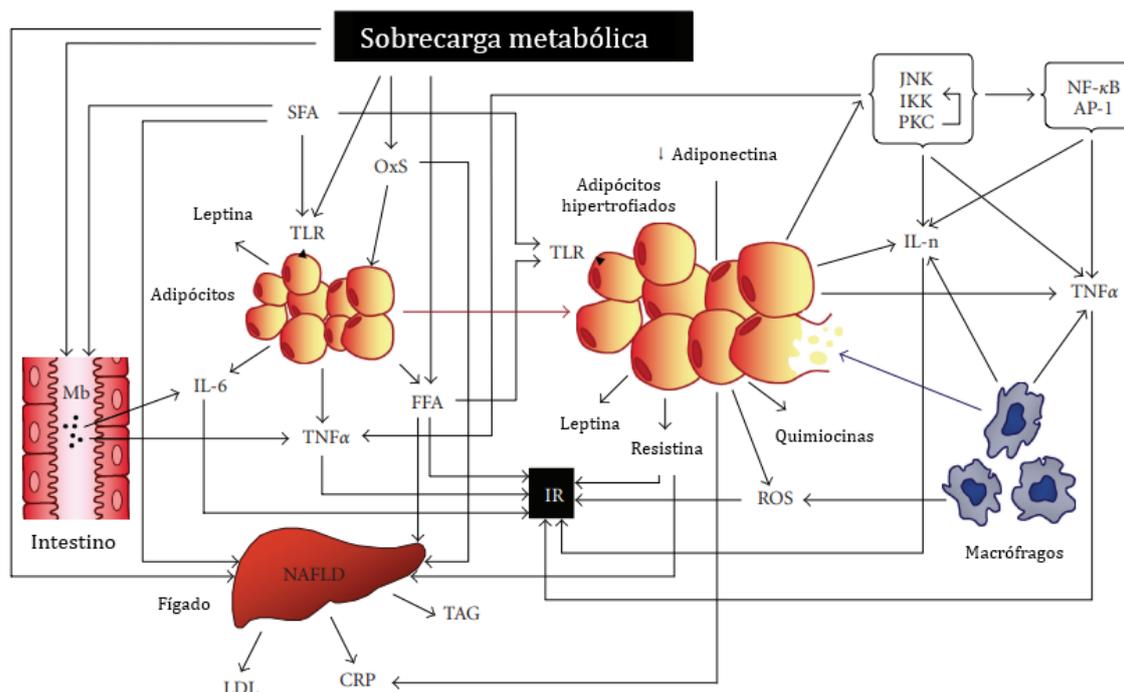


Figura 2: Esquema da interação obesidade-inflamação-síndrome metabólica. A hipertrofia facilita a ruptura dos adipócitos que atraem e ativam os macrófagos que reforçam significativamente o processo inflamatório. A produção de adiponectina, uma citocina anti-inflamatória, é reduzida em adipócitos hipertrofiados. O aumento da concentração de FFA (Ácidos graxos livres), proveniente tanto da alimentação como do excesso de tecido adiposo, acumula-se no fígado, entre outros órgãos. O acúmulo de gordura no fígado leva à produção excessiva de LDLs (Lipoproteínas de baixa densidade) e CRP (Proteína C reativa), juntamente com a IL-6. A NAFLD (doença hepática gordurosa não alcoólica) é uma consequência frequente destas desregulações metabólicas, e tudo isto tem impacto na sensibilidade à insulina. Os SFA (Ácidos graxos saturados) ativam receptores do tipo TOLL nos adipócitos, contribuindo para a ativação da resposta inflamatória. A gordura tem também efeitos na permeabilidade e na microbiota intestinal. Fonte: adaptado de Monteiro e Azevedo, 2010.

1.4.1 Tecido adiposo e inflamação

Estudos têm demonstrado níveis mais elevados de inflamação e um maior potencial de infiltração de macrófagos no tecido adiposo visceral (VAT) em comparação com o tecido adiposo subcutâneo (SCAT) em humanos e camundongos (KHANNA, et

al., 2020; KAWAI, et al 2021). Além disso, a inflamação no VAT está relacionada à redução de marcadores lipogênicos, provavelmente devido à perda da capacidade de armazenamento dos adipócitos nessa região, como resultado da inflamação local. Isso leva à deposição de lipídios em outras áreas, como músculo estriado esquelético e fígado. Essa deposição anormal de lipídios em locais não destinados está associada ao desenvolvimento de resistência à insulina e DM2 (SUN et al., 2011). Neste contexto, a obesidade comum é conhecida como multifatorial devido à associação de diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento da doença (MAYORAL et al., 2020)

Quando ocorre um superávit no balanço energético, o excesso de energia é armazenado no TAS. Esse aumento ocorre por meio de dois processos: hiperplasia, que envolve a proliferação e diferenciação dos pré-adipócitos; e hipertrofia, que implica no aumento do tamanho dos adipócitos. No entanto, quando o SCAT atinge sua capacidade máxima de armazenamento ou quando não consegue realizar esse processo adequadamente, o acúmulo de gordura visceral aumenta. A gordura visceral tem uma menor capacidade de se expandir por meio da hiperplasia, e em vez disso, cresce predominantemente por hipertrofia dos adipócitos. Um estudo anterior observou que ocorre uma remodelação do tecido adiposo, tanto estruturalmente quanto funcionalmente, iniciando um processo inflamatório. Quando essa inflamação aguda não resolve, pode desencadear um processo inflamatório de baixo grau, a nível local, mas com repercussão sistêmica, conhecida como lipoinflamação (IZAOLA et al., 2015; MARCELIN, et al., 2020). Os adipócitos hipertrofiados vão apresentar uma maior lipólise e liberação de ácidos graxos livres além de fatores recrutadores de macrófagos que vão contribuir para uma desregulação na secreção de adipocinas no tecido adiposo. Assim, indivíduos com obesidade apresentam um aumento no nível de citocinas pró-inflamatórias circulantes, como de interleucina-6 (IL-6), IL-1, leptina e Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (LEE, et al., 2023) Além disso, essas citocinas também são mediadoras da homeostase da glicose, triglicerídeos, saciedade e na resistência à insulina (WANG, 2018).

É importante destacar que aproximadamente 10-25% dos indivíduos com obesidade são metabolicamente balanceados, uma vez que sua sensibilidade à insulina ainda está preservada, e não apresentam propensão a desenvolver outras comorbidades (AHMED et al., 2021). No entanto, um estudo recente mostrou que, mesmo não apresentando problemas metabólicos, a obesidade não é uma condição saudável. Isto ocorre devido que mesmo que esses indivíduos permaneçam livres de doenças

metabólicas por décadas, ainda existe um risco aumentado de problemas cardiovasculares (ECKEL et al., 2018).

1.4.2 Citocinas e adipocinas

As citocinas são proteínas biologicamente ativas, secretadas em cascata sequencial durante processos infecciosos e inflamatórios. Essas proteínas desempenham um papel importante na comunicação entre as células. A superfamília de citocinas inclui interleucinas (ILs), quimiocinas, fatores estimuladores de colônia, interferons (IFNs) e TNF (DING *et al.*, 2014; DAMGAARD *et al.*, 2017). As ILs são sintetizadas por células do sistema imunológico, atuando na comunicação entre células e auxiliam em diversos processos complexos, como o desenvolvimento da inflamação (MIKHAILOVA e IVANOSHCHUK, 2021).

No tecido adiposo, as citocinas pró-inflamatórias regulam normalmente a remodelação da matriz extracelular, a neovascularização, a mobilização das reservas de gordura e a termogênese. Além disso, estão relacionadas ao processo de perda de peso em resposta ao exercício físico (MIKHAILOVA e IVANOSHCHUK; 2021). Os adipócitos e outras células do tecido adiposo são responsáveis pela produção e secreção de inúmeras substâncias autócrinas, parácrinas e endócrinas biologicamente ativas, incluindo leptina, adiponectina, resistina, entre outras. Essas proteínas são chamadas de adipocinas e têm potencial para causar complicações crônicas quando desreguladas (ZORENA et al., 2020).

As adipocinas estão envolvidas em diversas vias de sinalização metabólica e fisiológica, regulando a sinalização da insulina, a captação de glicose, a oxidação de ácidos graxos e outros processos metabólicos e produtores de energia. O ganho de peso e a obesidade causam uma mudança fenotípica no WAT que é caracterizada pelo surgimento de adipócitos disfuncionais inflamados, juntamente com a infiltração de células imunes neste tecido. Além disso, esses adipócitos inflamados secretam citocinas pró-inflamatórias que desregulam a homeostase do próprio tecido e de outros órgãos (KAWAI et al., 2021).

Estudos anteriores têm reportado que polimorfismos nas regiões que codificam essas citocinas podem tornar o indivíduo mais propenso à obesidade e/ou a comorbidades e condições relacionadas às alterações metabólicas que ocorrem na obesidade. Assim, os genes candidatos para o desenvolvimento desta pesquisa foram selecionados a partir do seu envolvimento em vias da homeostase energética e termogênese, adipogênese,

sinalização hormonal ou na prévia implicação de mutações na obesidade monogênica (LOKTIONOV, 2003; DEN HOED e LOOS, 2014).

1.5 Genes candidatos

Para o presente estudo foram selecionados quatro genes candidatos (*IL6*, *IL1A*, *IL1B* e *IL10*) envolvidos com as alterações metabólicas associadas à obesidade. A escolha dos genes foi baseada no papel destes na inflamação, e dos polimorfismos foi baseada principalmente na localização, na frequência e em suas análises em diferentes populações com resultados diferentes.

1.5.1 - Interleucina 6 (IL6)

O gene *IL6* está localizado no cromossomo 7p21 e possui 6 éxons. A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória, codificada por este gene e está envolvida com os processos de diferenciação, proliferação celular e apoptose. Adicionalmente, IL-6 atua na formação óssea, no metabolismo e em funções endócrinas, tendo a habilidade de afetar diversos tecidos e órgãos. Em relação ao metabolismo de lipídeos, a IL-6 promove um aumento da lipólise no tecido adiposo, suprime a sua síntese e aumenta a taxa de lipídios circulantes (WOLVEKAMP e MARQUET, 1990; ERSHLER, 1993; WANG, 2018). A IL-6 é produzida por adipócitos, macrófagos, músculo esquelético, células endoteliais e fibroblastos. O tecido adiposo é uma importante fonte desta proteína representando cerca de um terço da produção de IL-6 circulante. Além disso, o aumento da concentração dessa citocina está associado ao aumento de IMC e circunferência de cintura (TAYLOR et al., 2021).

O polimorfismo rs2069837 (A>G) está localizado no primeiro íntron do gene, onde exerce uma atividade reguladora da expressão gênica. A alteração de adenina (A) para guanina (G) na posição c.-18-285A>G, está associada à diminuição da expressão da proteína IL-6, especialmente no genótipo homocigoto mutado GG (GONG et al., 2022).

1.5.2 - Interleucina 1 (IL1)

O gene *IL1* está localizado no cromossomo 2q14.1 e possui 8 éxons. Este gene pode codificar onze diferentes isoformas, destacam-se as citocinas IL-1 α e IL-1 β , as quais são sintetizadas principalmente por células não-hematopoiéticas e por monócitos, respectivamente (MIGLIORINI et al., 2020).

As citocinas da família IL-1 são importantes reguladores da resposta imune inata, sendo constituída por citocinas pró e anti-inflamatórias. A IL-1 α e IL-1 β são citocinas pró-inflamatórias clássicas (DINARELLO, 1996; BALLAK et al., 2015). Além disso, estas estão relacionadas ao metabolismo de lipídeos, possuindo ação inibidora sobre a enzima que regula o armazenamento deles no corpo - a lipoproteína lipase (WANG, 2018). Estudos apontam que a indução de estresse inflamatório agudo em ratos causa um aumento nas concentrações de IL-1 β no WAT principalmente nos TAS. Esta condição ao longo do tempo pode estar relacionada a alterações no metabolismo de lipídios, possivelmente interferindo na capacidade de absorção, síntese, retenção de lipídios, e na habilidade de expansão por hiperplasia do TAS. Consequentemente, esse processo pode estar relacionado ao aumento de acúmulo de gordura visceral (SPEAKER, 2012).

Os polimorfismos o rs2069837 (G>A) e rs13032029 (C>T) foram selecionados nesse estudo. O polimorfismo rs2069837 é uma variante intergênica enquanto o rs13032029 está localizado na região promotora. Alguns estudos demonstram que a IL-1 α apresenta níveis elevados em indivíduos com obesidade, e o genótipo AA para o rs2069837 tem sido associado a um aumento da expressão desta citocina em células imunes (UM, JAE-YOUNG et al., 2011). Entretanto, na literatura não são encontrados muitos trabalhos relacionando o rs13032029 com a obesidade e/ou suas comorbidades. Todavia um estudo realizado por Fonseca e colaboradores (2015), no qual foi realizada a análise haplotípica do rs1303202 com uma variante do gene *BDNF* (*Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro*), demonstrou a associação do genótipo TT com um menor risco de ganho de peso induzido por antipsicóticos em pacientes com esquizofrenia.

1.5.2 - Interleucina 10 (IL10)

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina chave no sistema imunológico, desempenhando um papel fundamental na modulação da resposta inflamatória. Sua principal função é atuar como um mediador anti-inflamatório, garantindo a proteção do organismo contra respostas imunes excessivas a patógenos e microbiota. Além disso, a IL-10 desempenha papéis importantes em outros contextos, como cicatrização de feridas, autoimunidade, câncer e homeostase. (SARAIVA, et al., 2019)

No que diz respeito ao metabolismo, a IL-10 tem sido implicada na regulação da inflamação associada à obesidade e suas complicações metabólicas. Em condições de

obesidade, os níveis de IL-10 podem estar diminuídos, o que contribui para a inflamação crônica do tecido adiposo e para a resistência à insulina. No entanto, estudos também sugerem que aumentar os níveis de IL-10 pode ter efeitos benéficos na melhoria da sensibilidade à insulina e na redução da inflamação do tecido adiposo. (REN, et al., 2022)

A IL-10 possui um fator protetivo contra os efeitos de outras moléculas envolvidas no processo inflamatório no tecido adiposo, como o fator de necrose tumoral alpha (TNF- α) a qual possui associação com o desenvolvimento de resistência insulínica. Além disso essa adipocina apresenta uma menor expressão em camundongos obesos comparados com camundongos de peso normal, porém o tecido adiposo desses animais apresentou a mesma expressão de seu receptor (OUYANG, et al., 2011)

Em resumo, a IL-10 desempenha um papel crucial na regulação da resposta inflamatória, desempenhando funções anti-inflamatórias importantes no metabolismo, especialmente no contexto da obesidade e suas complicações metabólicas. Para o gene *IL10* o polimorfismo rs3024497, uma mutação de região 3' UTR, foi escolhido para ser analisado neste estudo. Não foram encontrados na literatura outros trabalhos com este polimorfismo relacionados a obesidade e/ou outras comorbidades.

2. JUSTIFICATIVA

A obesidade é uma doença complexa, determinada pela ação conjunta de fatores genéticos e ambientais, constituindo uma doença que acarreta um sério problema de saúde pública. Diversos estudos já demonstraram a participação da genética no risco para o desenvolvimento da obesidade. No entanto, o papel de variantes genéticas nos mediadores inflamatórios, bem como no desenvolvimento da obesidade necessita de melhores esclarecimentos. É importante destacar que diferentes resultados são observados dependendo das populações estudadas e a maioria é realizado em coortes com homogeneidade genética, tais como caucasianos, asiáticos ou negros.

No Brasil ocorreu uma importante miscigenação étnica tri-híbrida, constituída basicamente por colonos portugueses, povos escravizados e os povos originários. No entanto, a complexidade foi aumentada posteriormente pela introdução de outros grupos, como os judeus, árabes, alemães, poloneses, italianos, coreanos, chineses, latino-americanos e outros imigrantes, o que aumentou muito sua heterogeneidade e complexidade étnica. Neste contexto, o presente trabalho visa contribuir para o entendimento das interações entre diferentes polimorfismos nos genes *IL1A*, *IL1B*, *IL6* e *IL10*, envolvidos com a resposta inflamatória e sua possível relação com a obesidade e complicações metabólicas.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi investigar se polimorfismos genéticos de mediadores inflamatórios são associados a obesidade e as alterações metabólicas em uma coorte de indivíduos da população da Baixada Fluminense.

Objetivos específicos

- Realizar a genotipagem dos polimorfismos nos genes *IL1A* (rs1800587), *IL1B* (rs13032029), *IL6* (rs2069837) e *IL10* (rs3024497).
- Determinar as frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos estudados.
- Investigar o efeito dos polimorfismos na suscetibilidade à obesidade.
- Avaliar a influências dos polimorfismos nas alterações metabólicas.

4. Materiais e Métodos

4.1. Amostras

4.1.1 Casuística

O material biológico utilizado neste projeto de pesquisa foi constituído por amostras de sangue periférico de 344 indivíduos, atendidos na Unidade Básica de Saúde do Município de Nova Iguaçu, no estado do Rio de Janeiro. O fluxo de recebimento do material biológico foi contínuo. Após a triagem, as amostras receberam um código para assegurar o sigilo de identidade dos participantes e foram classificadas conforme o IMC. Os indivíduos foram classificados em dois grupos: com obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) e sem (eutrófico + sobrepeso - $\text{IMC}: 18,5\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$). Sendo o nosso tamanho amostral composto por 107 eutróficos, 112 sobrepesos e 125 com obesidade. Além disso, só foram incluídos nas estatísticas indivíduos com 16 anos ou mais. Os critérios de exclusão foram os indivíduos com hipertensão arterial grave, diabetes *mellitus* Tipo 1 e hipotireoidismo ou hipertireoidismo não adequadamente controlados. Os participantes que não desejaram participar ou pediram para serem retirados do estudo, também foram excluídos.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO sob parecer nº. 64908114.4.0000.5283. Toda a pesquisa científica seguiu estritamente as recomendações exigidas pela Resolução CNS nº 466/2012.

4.2 Avaliação das características clínicas

Foram avaliados todos os participantes e obtidos parâmetros antropométricos, incluindo pressão arterial sistólica e diastólica, peso, altura, circunferência de cintura, quadril e pescoço.

Para as análises bioquímicas e moleculares, foram coletados 8 mL de sangue periférico em tubos específicos (soro e EDTA), após um período de 12 horas de jejum. As alíquotas de plasma e soro foram armazenadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ e direcionadas para as análises bioquímicas, enquanto os tubos de sangue contendo EDTA foram encaminhados para o Laboratório de Genética da UNIGRANRIO (LabGen) para extração de DNA e análise molecular.

4.2.1 Avaliação antropométrica

4.2.1.1 Índice de massa corporal (IMC)

O índice de massa corporal (IMC) individual foi calculado dividindo o peso (em kg) pela estatura (em metros) elevada ao quadrado (m^2). Os pacientes estavam em jejum, vestindo roupas leves e sem calçados. Utilizando uma balança antropométrica (modelo Filizola), o peso foi registrado, e a estatura foi medida com um estadiômetro. A classificação subsequente seguiu as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) conforme especificado na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de referência para a classificação do IMC

IMC (kg/m^2)	Classificação	Obesidade grau/classe	Risco de doença
<18,5	Magro ou baixo peso	0	Normal ou elevado
18,5-24,9	Normal ou eutrófico	0	Normal
25-29,9	Sobrepeso ou pré-obeso	0	Pouco elevado
30-34,9	Obesidade	I	Elevado
35-39,9	Obesidade	II	Muito elevado
$\geq 40,0$	Obesidade grave	III	Muitíssimo elevado

Fonte: Adaptado World Health Organization, 2017

4.2.1.2 Circunferência da Cintura (CC), de Quadril (CQ), de pescoço (CP) e Razão Cintura/Quadril (RCQ)

As circunferências da cintura (CC), do quadril (CQ) e do pescoço foram mensuradas utilizando uma fita métrica metálica flexível, graduada em centímetros, com o paciente em pé. A CC foi determinada no ponto médio entre a crista ilíaca e o último arco costal. A CQ foi medida na maior circunferência posterior das nádegas. A circunferência do pescoço foi medida no ponto médio da altura do pescoço. A razão cintura/quadril (RCQ) foi obtida a partir da divisão da CC pela CQ.

4.2.1.3 Determinação da Pressão Arterial

A pressão arterial (PA) foi medida usando o método oscilométrico com um aparelho Omron, usando um manguito de tamanho apropriado, no membro superior não dominante, com o paciente sentado. Após um período de 5 minutos de repouso, foram realizadas três medições sequenciais da PA, com intervalos de 3 minutos entre elas. Para considerar uma medida válida, os valores de pressão arterial sistólica (PAS) não poderiam diferir mais do que 10 mmHg, e os valores de pressão arterial diastólica (PAD) não poderiam diferir mais do que 5 mmHg entre as três medições. A média da PA foi calculada a partir da média aritmética dos valores de PAS e PAD dessas três medidas. A pressão arterial média foi obtida pelo cálculo do dobro da média da PAD, somado à média da PAS, e esse resultado foi então dividido por três.

4.3. Avaliação Bioquímica

Todos os testes bioquímicos foram realizados em colaboração com o Laboratório de Lípidos (LabLip) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

4.3.1 Lipídeos (colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol)

As concentrações séricas de colesterol total, HDL-colesterol e triglicerídeos foram determinadas pelo método enzimático-colorimétrico. O LDL-colesterol foi estimado utilizando a fórmula de Friedwald quando os valores dos triglicerídeos séricos foram inferiores a 400 mg/dl.

4.3.2 Glicemia

As concentrações plasmáticas de glicose foram determinadas pelo método enzimático-hexoquinase.

4.4 Avaliação para comorbidades

A pressão arterial considerada ideal, de acordo com a Associação Brasileira de Hipertensão, é de 120 mmHg para a sistólica e 80 mmHg para a diastólica. Valores até 130 mmHg para a pressão sistólica são considerados normais. A hipertensão arterial é caracterizada pela elevação persistente da pressão arterial, com valores iguais ou superiores a 140 mmHg para a sistólica e/ou iguais ou superiores a 90 mmHg para a diastólica, conforme as diretrizes brasileiras de hipertensão arterial de 2020.

Os participantes também foram classificados de acordo com os critérios estabelecidos por Alberti e colaboradores em 2009 e a diretriz brasileira de dislipidemia e prevenção à aterosclerose de 2013 em várias categorias, incluindo obesidade abdominal, elevação de glicose, elevação de colesterol total, redução de HDL, elevação de LDL, elevação de VLDL e elevação de triglicerídeos. Os parâmetros utilizados para essa classificação podem ser encontrados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 2: Parâmetros de referência para a classificação de síndrome metabólica

Medida	Ponto de corte categórico
Circunferência de cintura	≥90 cm (Homens); ≥80 cm (Mulheres)
HDL	<40mg/dl (Homens); <50mg/dl (Mulheres)
Glicemia de jejum	≥100 mg/dl
Triglicerídeos	≥150 mg/dl
Colesterol total	>240 mg/dl
LDL	>160 mg/dl

Fonte: adaptado de Alberti *et al.*, 2009 e Faludi *et al.*, 2017.

4.5. Avaliação genético-molecular

4.5.1. Extração de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído utilizando o kit para isolamento de DNA genômico Flexigene DNA Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), a partir de leucócitos de sangue periférico, seguindo as recomendações e protocolo da empresa fabricante. Após o procedimento foram atribuídos códigos específicos ao DNA e o mesmo foi estocado a -20°C no Laboratório de Genética Humana.

4.5.2 Análise dos polimorfismos genéticos

Para avaliação molecular foram analisados quatro polimorfismos de quatro genes candidatos ou moduladores da inflamação, utilizando o PCR em tempo real, descritas abaixo.

4.5.3 Genotipagem

A determinação dos polimorfismos genéticos para os genes *IL1A*, *IL1B*, *IL6* e *IL10* foram realizadas a partir da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em Tempo Real utilizando sondas *TaqMan* (Thermo Fisher, Foster City, CA, USA) específicas para cada polimorfismo (Tabela 3).

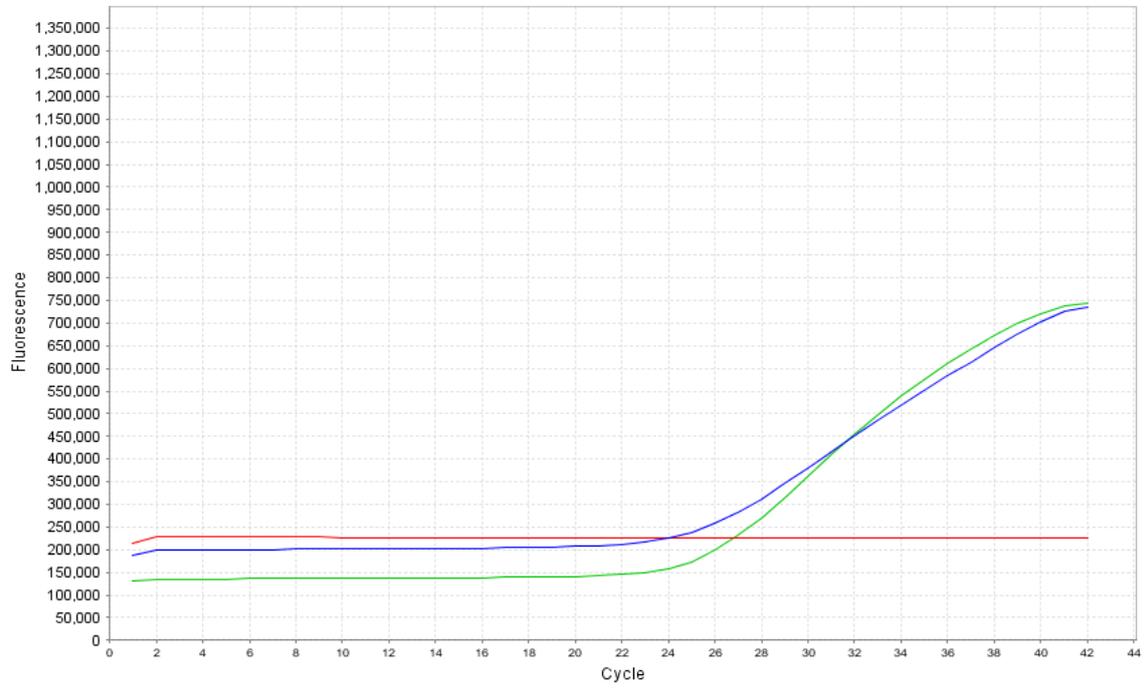
Tabela 3. Genes com sua respectiva variante e sondas empregadas no estudo.

GENE	dbSNP ID	SONDA
<i>IL1A</i>	rs1800587	GATTTTACATATGAGCCTTCAATG[G/A]TGTTGCCTGGTT ACTATTATTAAG
<i>IL1B</i>	rs13032029	CCTCCTCTCCTATCCCACGCATCAA[C/T]CTTTCCTGTCTAT TTGCAGTTCCTT
<i>IL6</i>	rs2069837	TATCTACTGTGTGCCAGGCACTTTA[A/C/G]ATAAATATTGT GTCTAATCTTCAAA
<i>IL10</i>	rs3024497	AAAATTATAATATTGGGCTTCTTTC[C/T]AAATCGTTCACA GAGAAGCTCAGTA

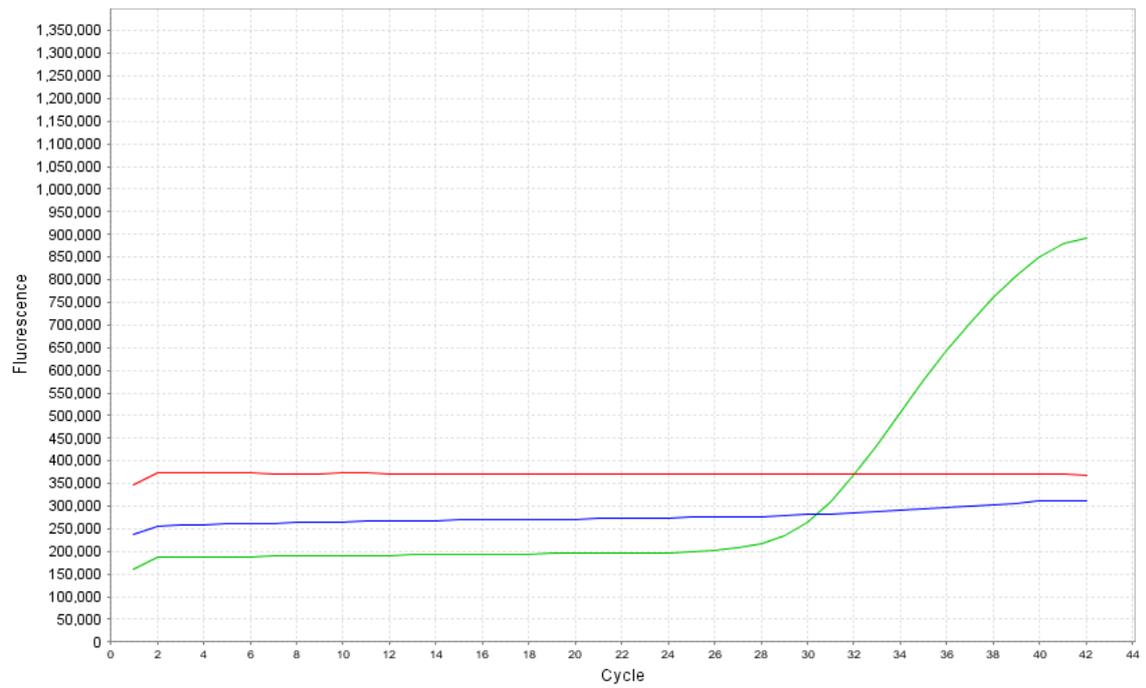
Para análise de todos os polimorfismos, foram realizadas reações utilizando *TaqMan Genotyping Master Mix*® (2x), sonda *TaqMan*® (40x) específica para cada variante estudada, 10-30ng de DNA genômico e água estéril. Para toda reação foi incluído um controle negativo realizado em duplicata, para garantir que não houve nenhuma contaminação. A técnica de PCR em Tempo Real foi realizada no aparelho *QuantStudio*™ 7 *Flex Real-Time PCR System* (Thermo Fisher Scientific). A amplificação foi realizada sob as seguintes condições de ciclagem: 60°C por 30 segundos, seguido de 95° por 10 minutos e posteriormente 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60° por um minuto, finalizando com uma extensão final de 60°C por 30 segundos.

Gráfico 2. Gráficos multicomponentes. O eixo indica a fluorescência do fluoróforo e o eixo x o número de ciclos. A curva verde indica a fluorescência do VIC e o azul é a fluorescência do FAM. O A representa um heterozigoto, o B representa um homozigoto selvagem e o C um homozigoto mutado.

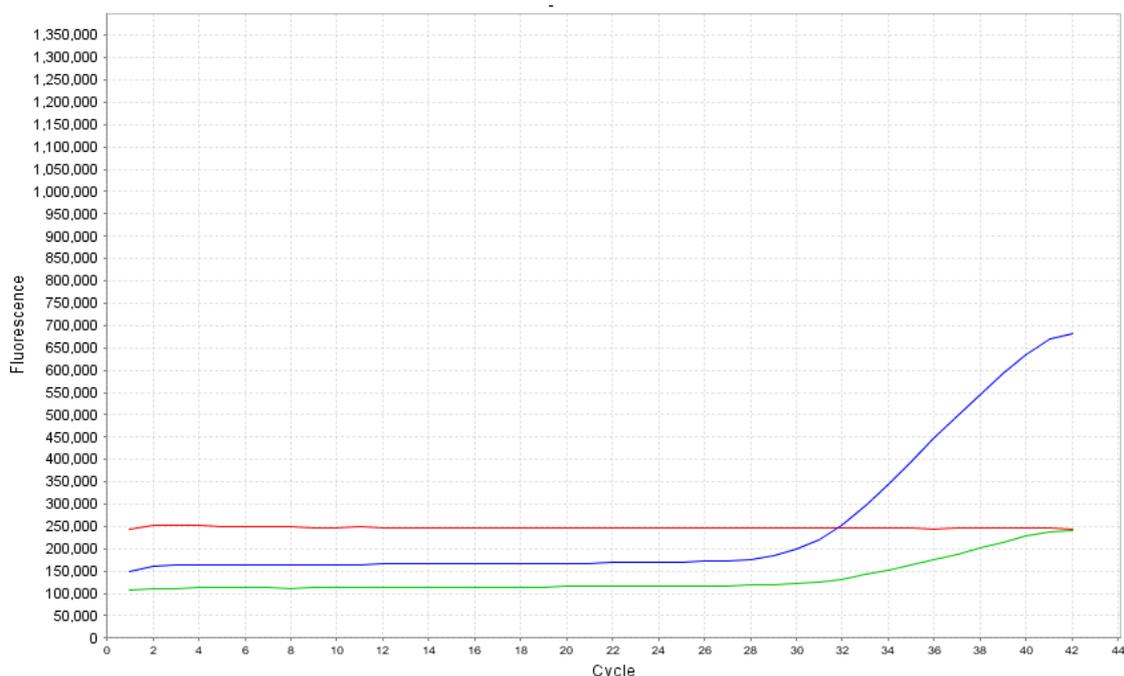
A



B



C



4.6 Análise estatística

Para verificar a normalidade da distribuição das variáveis quantitativas (dosagens bioquímicas, medidas antropométricas e níveis pressóricos), foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis quantitativas apresentaram a distribuição não normal e foram apresentadas através de mediana e percentis de 25% e 75%.

Para analisar uma possível associação entre os genótipos e as variáveis bioquímicas e antropométricas (dicotomizadas – afetado / normal) foram utilizados os testes Qui-quadrado (χ^2) e posteriormente os cálculos de estimativa de risco (OR) para aqueles que apresentaram resultados significativos no teste de associação. Os mesmos testes também foram aplicados utilizando a frequência alélica.

Além disso, a análise de regressão linear foi selecionada como abordagem estatística para investigar a possível associação entre as variáveis bioquímicas, pressóricas e antropométricas avaliadas neste estudo e os genótipos dos polimorfismos estudados. Todas as análises estatísticas foram feitas com auxílio do *Software IBM SPSS v.25*.

4.6.1 Comparação das frequências com banco de dados

A frequência do menor alelo (MAF) foi comparada com as de diferentes populações, como da Europa, América Latina, África e Ásia. Estes dados foram obtidos a partir do banco de sequências genéticas da plataforma *NCBI*, o *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Neste banco pode ser encontrada as

frequências e citações das variantes genéticas, bem como informações detalhadas dos genes.

5. Resultados

5.1. Análise descritiva

Para o presente estudo foram avaliados 344 indivíduos, sendo estes divididos em casos (n=125, M=31; F=94) e controles (n=219; M=78; F=141). Todos os participantes são provenientes da Unidade Básica de Saúde do Município de Nova Iguaçu, no estado do Rio de Janeiro.

As características clínicas com os dados comparativos da distribuição dos parâmetros entre o grupo com (caso) e sem obesidade (controle) são apresentados na tabela 4. Nossos resultados demonstram que existem diferenças significativas entre os grupos em todas as medidas antropométricas (IMC, CC, CQ, RCQ e CP) e pressóricas (PAS e PAD). Nas variáveis bioquímicas, observamos níveis maiores de glicose, triglicérides, colesterol total e as frações LDL e VLDL nos pacientes com obesidade quando comparados aos controles. No entanto, não foi observado diferenças estatísticas entre os grupos com relação aos níveis de colesterol HDL. O colesterol total nos indivíduos do grupo de casos apresenta-se no limite dos níveis considerados saudáveis (>200 mg/dl) enquanto nos controles apresentam valores dentro do normal (186 mg/dl). Os níveis de colesterol LDL estão acima do recomendado (>100 mg/dl) e os níveis de VLDL estão dentro dos valores de referência em ambos os grupos. Os triglicérides também estão dentro dos valores normais, porém aumentado em indivíduos com obesidade

Tabela 4: Comparação da distribuição das variáveis quantitativas em relação à obesidade.

	Controles				Casos				<i>p</i>
	Mediana	Quartil 25	Quartil 75	N	Mediana	Quartil 25	Quartil 75	N	
IDADE	55	38	67	219	53	43	64	125	0,988
PESO	64	54,5	71	207	86	77,5	96,7	117	<0,001
ALTURA	1,59	1,55	1,67	207	1,58	1,52	1,65	117	0,125
IMC	25,3	22,0	27,6	219	33,8	31,6	36,8	125	<0,001
CC	87	75	95	192	103	98	111	111	<0,001
CQ	97	92	101	219	112	105	120	125	<0,001
RCQ	0,89	0,81	0,95	192	0,93	0,86	0,98	111	<0,001
CP	35	32	37	181	38	36	40	97	<0,001
PAS	120	110	130	219	130	120	140	123	<0,001
PAD	80	70	85	218	80	80	100	122	0,001
Glicose	98	89	118	191	106	98	125	106	0,002
Col T	189	160	221	193	200	169	244	111	0,008
HDL	47	41	57	193	48	40	57	111	0,941
LDL	113	90	139	192	126	100	156	109	0,011
VLDL	22	15	31	191	26	17	33	106	0,018
Triglic	108	76	156	192	130	87	167	108	0,013

Os valores representam mediana (intervalo interquartil 25 - interquartil 75) para as variáveis. * $p < 0,05$ CC: Circunferência de Cintura; CQ: circunferência de quadril; RCQ: Razão cintura-quadril; CP: circunferência de pescoço; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; Col T : colesterol total; HDL: colesterol HDL; LDL: colesterol LDL; VLDL: colesterol VLDL.

5.2 Associação entre os polimorfismos e o desenvolvimento de obesidade

A tabela 5, mostra os resultados das distribuições genóticas e alélicas para os polimorfismos *IL1A* rs1800587, *IL1B* rs13032069 e *IL6* rs2069837 em relação à condição de obesidade. Os resultados do polimorfismo rs13032029 indicam que o alelo “T” possui um risco 1,5 vezes maior para o desenvolvimento de obesidade em relação ao alelo selvagem.

Tabela 5: Associação dos polimorfismos estudados e a suscetibilidade à obesidade

Polimorfismo	Genótipo	Normal	Afetado	Total	P-value	OR	IC95%(OR)				
<i>rs1800587</i> x Obesidade	GG	82	52	134	0,778	*	Referência				
	AG	58	40	98			*	*	*		
	AA	18	9	27			*	*	*		
	Total	158	101	259							
	Alelo										
	G	222	144	366	0,802	*	*	*			
	A	94	58	152					*	*	*
	Total	316	202	518							
	rs13032029 x Obesidade	CC	85	35	120	0,049	0,979	Referência			
		CT	66	51	117			1,408	0,680		
TT		19	15	34	1,022			1,470			
Total		170	101	271							
Alelo											
C		236	121	357	0,024	0,658	0,947	0,458			
T		104	81	185					1,519	1,056	2,186
Total	340	202	542								
rs2069837 x Obesidade	AA	82	51	133	0,066	*	*	*			
	AG	8	12	20					*	*	*
	Total	90	63	153							
	Alelo										
	A	172	114	286	0,077	*	*	*			
	G	8	12	20					*	*	*
	Total	180	126	306							

Nota: A distribuição é representada por N(%) *OR não calculado por não apresentar significância estatística

5.3 Análise dos polimorfismos em relação à suscetibilidade à hipertensão arterial sistêmica

A tabela 6, mostra os resultados das distribuições genóticas e alélicas para os polimorfismos *IL1A* rs1800587, *IL1B* rs13032069 e *IL6* rs2069837 em relação à condição de hipertensão. Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre nenhum dos polimorfismos estudados e a hipertensão arterial sistêmica.

Tabela 6. Associação dos polimorfismos estudados e a suscetibilidade à hipertensão

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	<i>P-value</i>	
<i>rs1800587</i> x Hipertensão	AA	20 (15,9)	7 (12,1)	27 (14,2)	0,998	
	AG	71 (56,3)	24 (41,4)	95 (52,6)		
	GG	100 (27,8)	34 (46,6)	134 (33,2)		
	Total	191	65	256		
	Alelo					
<i>rs13032029</i> x Hipertensão	A	111 (29,1)	38 (29,2)	149 (29,1)	0,970	
	G	271 (70,9)	92 (70,8)	363 (70,9)		
	Total	382	130	512		
	<i>rs2069837</i> x Hipertensão	CC	87 (44,7)	33 (50,8)	120 (49,2)	0,858
		CT	86 (43,8)	31 (48,1)	117 (46,2)	
TT		24 (11,5)	7 (1,1)	31 (4,6)		
Total		197	71	268		
Alelo						
<i>rs2069837</i> x Hipertensão	C	260 (66,0)	97 (68,3)	357 (66,6)	0,615	
	T	134 (34,0)	45 (31,7)	179 (33,4)		
	Total	394	142	536		
	<i>rs2069837</i> x Hipertensão	AA	97 (88,2)	36 (83,7)	133 (86,9)	0,462
		AG	13 (11,8)	7 (16,3)	20 (13,1)	
Total		110	43	153		
<i>rs2069837</i> x Hipertensão		Alelo				
		A	207 (94,0)	79 (91,9)	286 (93,5)	0,478
	G	13 (6,0)	7 (8,1)	20 (6,5)		
	Total	220	86	306		

5.4 Análise dos polimorfismos em relação as condições elevadas nas variáveis bioquímicas

A tabela 7, mostra os resultados das distribuições genótípicas e alélicas para os polimorfismos *IL1A* rs1800587, *IL1B* rs13032069 e *IL6* rs2069837 em relação à condição de glicemia elevada. Nenhum dos resultados apresentou diferenças significativas entre os polimorfismos e a variável estudada.

Tabela 7. Investigação da influência dos polimorfismos na glicemia elevada

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	P-value
<i>rs1800587</i> x Glicemia Elevada	AA	12 (10,4)	15 (13,6)	27 (11,2)	0,490
	AG	51 (43,9)	38 (34,5)	89 (37,0)	
	GG	65 (45,7)	58 (51,8)	123 (51,8)	
	Total	128	111	239	
	Alelo				
	A	75 (29,3)	68 (30,6)	143 (29,9)	0,751
G	181 (70,7)	154 (69,4)	335 (70,1)		
Total	256	222	478		
<i>rs13032029</i> x Glicemia Elevada	CC	35 (44,9)	71 (48,6)	106 (48,9)	0,948
	CT	34 (43,6)	73 (50,0)	107 (49,1)	
	TT	9 (11,5)	21 (1,4)	30 (1,8)	
	Total	78	165	243	
	Alelo				
	C	161 (64,9)	157 (67,1)	318 (66,0)	0,615
T	87 (35,1)	77 (32,9)	164 (34,0)		
Total	248	234	482		
<i>rs2069837</i> x Glicemia Elevada	AA	63 (81,8)	49 (90,7)	112 (85,5)	0,153
	AG	14 (18,2)	5 (9,3)	19 (14,5)	
	Total	77	54	131	
	Alelo				
	A	140 (90,9)	103 (95,3)	243 (92,8)	0,171
	G	14 (9,1)	5 (4,7)	19 (7,2)	
Total	154	108	262		

Nota: A distribuição é representada por n(%)

OR não foi calculado por não apresentar significância estatística

A tabela 8, mostra os resultados das distribuições genotípicas e alélicas para os polimorfismos estudados em relação à condição de colesterol total elevado. O polimorfismo *IL1A* rs1800587 apresentou resultados significativos para a distribuição alélica ($p=0,025$), indicando uma estimativa de risco de 56%, do alelo “G”, para a condição de colesterol total elevado. O polimorfismo *IL6* rs2069837 também apresentou resultados significativos para a associação com genótipo “AG” e alelo “G” ($p<0,001$). Os resultados apontam uma estimativa de risco para colesterol total elevado 18 vezes maior para o genótipo “AG” e 16 vezes maior para o alelo “G”. Não foram encontrados nenhum resultado significativo para o polimorfismo do *IL1B* com a variável colesterol total elevado

Tabela 8. Influência dos genótipos e alelos dos polimorfismos estudados com colesterol total elevado

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	P-value	OR	IC95%(OR)		
rs1800587 x Colesterol Total elevado	AA	11 (8,4)	16 (14,5)	27 (11,0)	0,096	1,303	Referência		
	AG	43 (32,9)	48 (43,6)	91 (38,1)			0,545	3,113	
	GG	75 (58,7)	52 (41,8)	127 (50,9)			2,098	4,885	
	Total	129	116	245					
	Alelo				0,025	0,640	0,433	0,945	
	A	65 (25,1)	80 (34,5)	145 (29,6)					
	G	193 (74,9)	152 (65,5)	345 (70,4)					1,563
	Total	258	232	490					
	rs13032029 x Colesterol Total elevado	CC	57 (40,1)	50 (58,1)	107 (48,9)	0,781	*	Referência	
		CT	62 (43,7)	48 (39,5)	110 (50,0)			*	*
TT		18 (16,2)	12 (2,3)	30 (1,4)	*			*	
Total		137	110	247					
Alelo					0,480	*	*	*	
C		176 (64,2)	148 (67,3)	324 (65,6)					
T		98 (35,8)	72 (32,7)	170 (34,4)					*
Total	274	220	494						
rs2069837 x Colesterol Total elevado	AA	55 (75,3)	58 (98,3)	113 (85,6)	<0,001	0,053	0,007	0,411	
	AG	18 (24,7)	1 (1,7)	19 (14,4)					18,868
	Total	73	59	132					
	Alelo				<0,001	0,061	0,008	0,464	
	A	128 (87,7)	117 (99,2)	245 (92,8)					
	G	18 (12,3)	1 (0,8)	19 (7,2)					16,453
Total	146	118	264						

(A distribuição é representada por N (%): * Risco não calculado por não apresentar significância)

A tabela 9, mostra os resultados das distribuições genóticas e alélicas para os polimorfismos *IL1A* rs1800587, *IL1B* rs13032069 e *IL6* rs2069837 em relação à condição de LDL elevado.

Para o polimorfismo *IL6* rs2069837 foram encontradas diferenças entre os genótipos e alelos com a condição de LDL elevado (*P value*=0,042; 0,051, respectivamente). Ademais, os resultados mostraram uma estimativa de risco para esta condição de 2,8 vezes para genótipo “AG” e 2,6 vezes para o alelo “G”.

Tabela 9. Influência dos genótipos e alelos dos polimorfismos estudados no risco colesterol LDL elevado

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	<i>P-value</i>	OR	IC95%(OR)		
<i>rs1800587</i> x LDL elevado	AA	8 (9,3)	19 (16,5)	27 (11,2)	0,389	*	Referência		
	AG	38 (43,9)	53 (45,9)	91 (37,9)			*	*	*
	GG	55 (46,8)	70 (37,7)	125 (50,9)			*	*	*
	Total	101	142	243					
	Alelo				0,207	*	*	*	
	A	54 (26,7)	91 (32,0)	145 (29,8)					
	G	148 (73,3)	193 (68,0)	341 (70,2)					
	Total	202	284	486					
	<i>rs13032029</i> x LDL elevado	CC	45 (48,9)	61 (49,2)	106 (47,1)	0,744	*	Referência	
		CT	44 (47,8)	65 (51,6)	109 (49,1)			*	*
TT		14 (3,3)	15 (6,2)	29 (3,8)	*			*	*
Total		103	141	244					
Alelo					0,771	*	*	*	
C		134 (65,0)	187 (66,4)	321 (65,7)					
T		72 (35,0)	95 (33,6)	167 (34,3)					
Total	206	282	488						
<i>rs2069837</i> x LDL elevado	AA	42 (77,8)	68 (90,7)	110 (85,3)	0,042	0,360	0,131	0,987	
	AG	12 (22,2)	7 (9,3)	19 (14,7)					2,778
	Total	54	75	129					
	Alelo				0,051	0,392	0,149	1,031	
	A	96 (88,9)	143 (95,3)	239 (92,6)					
	G	12 (11,1)	7 (4,7)	19 (7,4)					2,551
Total	108	150	258						

(A distribuição é representada por N (%): * Risco não calculado por não apresentar significância)

A tabela 10, mostra os resultados das distribuições genótípicas e alélicas para os polimorfismos IL1A rs1800587, IL1B rs13032069 e IL6 rs2069837 em relação à condição de VLDL elevado.

Para o polimorfismo *IL6* rs2069837 foram encontradas diferenças significativas entre os genótipos e alelos com a condição de VLDL elevado ($P=0,002$; $P=0,003$, respectivamente. Os resultados mostraram um aumento de risco de 5 vezes para o genótipo “AG” e 4,2 vezes para o alelo “G”. Não foram encontradas diferenças significativas entre nenhum dos outros polimorfismos estudados com VLDL elevado.

Tabela 10. Associação dos polimorfismos com níveis de colesterol VLDL elevado

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	<i>P-value</i>	OR	IC95%(OR)		
rs1800587 x VLDL elevado	AA	4 (10,2)	23 (12,3)	27(11,3)	0,784	*	Referência		
	AG	11 (28,2)	79 (42,0)	90(37,7)			*	*	*
	GG	19 (61,5)	103 (45,7)	122(51,0)			*	*	*
	Total	34	205	239					
	Alelo				0,672	*	*	*	
	A	19 (27,8)	125 (30,5)	144 (30,1)					
	G	49 (72,2)	285 (69,5)	334 (69,9)					
	Total	68	410	478					
	rs13032029 x VLDL elevado	CC	16 (45,7)	89 (43,4)	105 (44,2)	0,788	*	Referência	
		CT	16 (45,7)	90 (43,9)	106 (44,6)			*	*
TT		3 (8,6)	26 (12,7)	29 (11,2)	*			*	*
Total		35	205	240					
Alelo					0,601	*	*	*	
C		48 (68,6)	268 (65,3)	316 (65,8)					
T		22 (31,4)	142 (34,7)	164 (34,2)					
Total	70	410	480						
rs2069837 x VLDL elevado	AA	15 (65,2)	94 (90,4)	109 (85,8)	0,002	0,199	0,068	0,585	
	AG	8 (34,8)	10 (9,6)	18 (14,2)		5,025	1,711	14,763	
	Total	23	104	127					
	Alelo				0,003	0,240	0,089	0,647	
	A	38 (82,6)	198 (95,2)	236 (92,9)					
	G	8 (17,4)	10 (4,8)	18 (7,1)					
Total	46	208	254						

(A distribuição é representada por N(%): * : Risco não calculado por não apresentar significância)

A tabela 11, mostra os resultados das distribuições genotípicas e alélicas para os polimorfismos estudados em relação à condição de HDL reduzido. Não foram encontradas nenhuma associação com a condição colesterol HDL reduzido e os polimorfismos estudados.

Tabela 11. Associação dos polimorfismos com níveis de com colesterol HDL reduzido

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	<i>P-value</i>
<i>rs1800587</i> x HDL reduzido	AA	4 (8,3)	23 (12,6)	27 (10,9)	0,211
	AG	27 (56,3)	64 (35,2)	91 (37,0)	
	GG	28 (35,4)	99 (52,2)	127 (52,1)	
	Total	59	186	245	
	Alelo				
	A	35 (29,7)	110 (29,5)	145 (29,6)	0,985
	G	83 (70,3)	262 (70,5)	345 (70,4)	
	Total	118	372	490	
<i>rs13032029</i> x HDL reduzido	CC	23 (40,4)	84 (47,2)	107 (43,1)	0,719
	CT	28 (49,1)	82 (45,8)	110 (44,2)	
	TT	6 (10,5)	24 (7,0)	30 (12,0)	
	Total	57	190	247	
	Alelo				
	C	74 (64,9)	250 (65,8)	324 (65,5)	0,863
	T	40 (35,1)	130 (34,2)	170 (34,5)	
	Total	114	380	494	
<i>rs2069837</i> x HDL reduzido	AA	27 (87,1)	86 (85,1)	113 (85,6)	0,787
	AG	4 (12,9)	15 (14,9)	19 (14,4)	
	Total	31	101	132	
	Alelo				
		A	58 (93,5)	187 (92,5)	245 (92,8)
	G	4 (6,5)	15 (7,5)	19 (7,2)	
	Total	62	202	264	

(A distribuição é representada por N(%): * Risco não calculado por não apresentar significância)

A tabela 12, mostra a análise de associação entre os polimorfismos estudados e à condição de triglicerídeos elevado. Conforme mostra a tabela 12, o alelo “G” do polimorfismo *IL1A* *rs1800587* apresentou uma estimativa de risco 56% maior para condição triglicerídeos elevados ($P=0,044$). Para o polimorfismo *IL6* *rs2069837* os resultados sugerem que tanto o genótipo “AG” quanto o alelo “G” possuem uma relação com o aumento do nível de

triglicerídeos ($P= 0,011$ e $P= 0,014$, respectivamente). O polimorfismo *IL1B* rs13032029 não apresentou nenhum resultado significativo para esta variável.

Tabela 12. Associação dos polimorfismos com níveis de triglicerídeos elevado

Polimorfismo	Genótipo	Afetado	Normal	Total	<i>P-value</i>	OR	IC95%(OR)				
rs1800587 x Triglicerídeos elevado	AA	5(6,5)	22(13,3)	27(11,2)	0,157	*	Referência				
	AG	26 (34,2)	64(38,7)	90(37,3)			*	*	*		
	GG	45(59,2)	79(48,4)	124(51,4)			*	*	*		
	Total	76	165	241							
	Alelo				0,044	0,638	0,411	0,990			
	A	36 (23,7)	108 (32,7)	144 (29,8)					1,568	1,011	2,431
	G	116 (76,3)	222 (67,3)	338 (70,2)							
	Total	152	330	482							
	rs13032029 x Triglicerídeos elevado	CC	35 (44,8)	71 (48,6)	106 (48,9)	0,948	*	Referência			
		CT	34 (43,5)	73 (50,0)	107 (49,3)			*	*	*	
TT		9 (11,5)	21 (1,3)	30 (1,8)	*			*	*		
Total		78	165	243							
Alelo					0,743	*	*	*			
C		104 (66,7)	215 (65,1)	319 (65,6)							
T		52 (33,3)	115 (34,9)	167 (34,4)							
Total	156	330	486								
rs2069837 x Triglicerídeos elevado	AA	34 (75,6)	78 (91,8)	112 (86,2)	0,011	0,277	0,099	0,777			
	AG	11 (24,4)	7 (8,2)	18 (13,8)					3,605	1,287	10,095
	Total	45	85	130							
	Alelo				0,014	0,308	0,115	0,826			
	A	79 (87,8)	163 (95,9)	242 (93,1)					3,242	1,211	8,682
	G	11 (12,2)	7 (4,1)	18 (6,9)							
Total	90	170	260								

(A distribuição é representada por N (%): *Risco não calculado por não apresentar significância)

5.5 Análise do efeito dos polimorfismos estudados em relação a variação dos parâmetros bioquímicos, antropométricos e pressóricos

O presente estudo também investigou a influência dos polimorfismos *IL1A* rs1800587, *IL1B* rs13032069 e *IL6* rs2069837 na variação dos parâmetros quantitativos obtidos dos pacientes. Não observamos resultados significativos (tabela 13)

Tabela 13: Influência do polimorfismo *IL1A* rs1800587 nas variáveis antropométricas, bioquímicas e pressóricas.

Parâmetros	GG		AG		AA		<i>p</i>
	Mediana	N	Mediana	N	Mediana	N	
IMC (kg/m²)	27,89 (24-32,7)	134	28,84 (24-32,2)	98	27,53 (24-31,5)	27	0,932
CC (cm)	96 (83-103)	120	94 (86-101)	84	96 (93-101)	25	0,616
CQ (cm)	101 (96-108,5)	135	103 (96,5-110)	98	100 (95-110)	28	0,543
RCQ (cm)	0,92 (0,85-0,98)	120	0,89 (0,83-0,96)	84	0,95 (0,83-1,01)	25	0,695
CP (cm)	36 (33-39)	116	37 (33-40)	74	36 (33-39)	21	0,237
PAS (mmHg)	120 (110-140)	134	120 (110-140)	97	120 (115-140)	28	0,990
PAD (mmHg)	80 (70-90)	134	80 (70-90)	96	80 (70-90)	27	0,919
Glicose (mg/dl)	101 (91-117)	123	102 (93-118)	89	97 (92-116)	27	0,428
Col T (mg/dl)	202 (164-242)	127	188 (160-219)	91	181 (157-222)	27	0,088
HDL (mg/dl)	50 (41-57)	127	45 (38-52)	91	50 (42-63)	27	0,956
LDL (mg/dl)	124 (96-155)	125	120 (91-138)	91	109 (83-142)	27	0,117
VLDL (mg/dl)	25 (17-34)	122	23 (15-31)	90	20 (14-29)	27	0,144
Triglic (mg/dl)	125 (88-170)	124	114 (75-155)	90	99 (71-143)	27	0,080

Legenda: CC: Circunferência de Cintura; CQ: circunferência de quadril; RCQ: Razão cintura-quadril; CP: circunferência de pescoço; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; Col T: colesterol total; HDL: colesterol HDL; LDL: colesterol LDL; VLDL: colesterol VLDL; Triglic: Triglicerídeos; Todos os valores das variáveis foram utilizados em forma de Log10 para realizar os cálculos. Os valores representam mediana (intervalo interquartil 25 - interquartil 75) para as variáveis sem distribuição normal. **p*<0,05.

Tabela 14: Influência do polimorfismo *IL1B* rs13032029 nas variáveis antropométricas, bioquímicas e pressóricas.

Parâmetros	CC		CT		TT		<i>p</i>	β
	Mediana	N	Mediana	N	Mediana	N		
IMC (kg/m²)	27,6 (24,3-31)	120	28,66 (24-33,5)	117	29,29 (24-31,8)	34	0,071	0,015
CC (cm)	94 (82-100)	106	95 (84-102)	103	94 (85-101)	29	0,034*	0,008
CQ (cm)	100 (93-107)	121	104 (96-113)	118	101 (97-110)	34	0,236	0,012
RCQ (cm)	0,92 (0,82-0,97)	106	0,9 (0,83-0,97)	103	0,91 (0,87-0,99)	29	0,136	0,006
CP (cm)	35 (32-38)	99	36 (34-39)	98	37 (34-41)	27	0,346	0,004
PAS (mmHg)	120 (110-140)	121	120 (110-140)	118	125 (110-135)	32	0,721	-0,002
PAD (mmHg)	80 (70-90)	120	80 (70-90)	117	80 (70-90)	32	0,561	-0,004
Glicose (mg/dl)	99 (91-112)	105	102 (91-116)	108	101 (95-115)	28	0,739	0,005
Col T (mg/dl)	195 (166-239)	107	199 (161-219)	110	201 (179-237)	30	0,623	-0,005
HDL (mg/dl)	49 (40-59)	107	46 (39-54)	110	47 (40-58)	30	0,644	-0,004
LDL (mg/dl)	119 (92-149)	106	119 (96-140)	109	128 (108-156)	29	0,843	0,003
VLDL (mg/dl)	24 (17-32)	105	24 (16-32)	106	19 (15-31)	29	0,143	-0,028
Triglic (mg/dl)	119 (85-161)	106	121 (79-165)	107	102 (75-167)	30	0,218	-0,024

Legenda: CC: Circunferência de Cintura; CQ: circunferência de quadril; RCQ: Razão cintura-quadril; CP: circunferência de pescoço; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; Col T: colesterol total; HDL: colesterol HDL; LDL: colesterol LDL; VLDL: colesterol VLDL; Triglic: Triglicerídeos; Todos os valores das variáveis foram utilizados em forma de Log10 para realizar os cálculos. Os valores representam mediana (intervalo interquartil 25 - interquartil 75) para as variáveis sem distribuição normal. *p<0,05

Com relação ao polimorfismo *IL6* rs2069837, diferenças significativas para as variáveis colesterol total ($p=0,007$), LDL ($p=0,012$), VLDL ($p=0,010$) e triglicerídeos ($p=0,039$). Em todos os casos o alelo “G” está associado a maiores níveis circulantes dessas variáveis.

Tabela 15: Influência do polimorfismo *IL6* rs2069837 nas variáveis antropométricas, bioquímicas e pressóricas

Parâmetros	AA		AG		<i>p</i>	β
	Mediana	N	Mediana	N		
IMC (kg/m ²)	28,6 (24,45-33,59)	133	30,35 (27,4-33,25)	20	0,163	0,033
CC (cm)	94 (83-103)	119	99 (94-107)	16	0,452	0,008
CQ (cm)	101 (95-111)	133	104 (99,5-112,5)	20	0,229	0,008
RCQ (cm)	0,91(0,83-0,9)	119	0,92 (0,86-0,98)	16	0,686	-0,005
CP (cm)	36 (32-39)	105	39 (36-41)	16	0,639	0,004
PAS (mmHg)	120 (110-140)	133	125 (110-145)	20	0,661	-0,007
PAD (mmHg)	80 (70-90)	133	80 (70-90)	20	0,856	0,003
Glicose (mg/dl)	101 (93-112)	112	113 (99-187)	19	0,081	0,072
Col T (mg/dl)	189 (160-234)	113	225 (206-260)	19	0,007*	0,071
HDL (mg/dl)	47 (41-57)	113	52 (46-64)	19	0,272	0,027
LDL (mg/dl)	114 (83-147)	110	140 (124-174)	19	0,012*	0,108
VLDL (mg/dl)	22 (15-33)	109	38 (23-51)	18	0,01*	0,14
Triglic (mg/dl)	111 (77-170)	112	189 (115-254)	18	0,039*	0,118

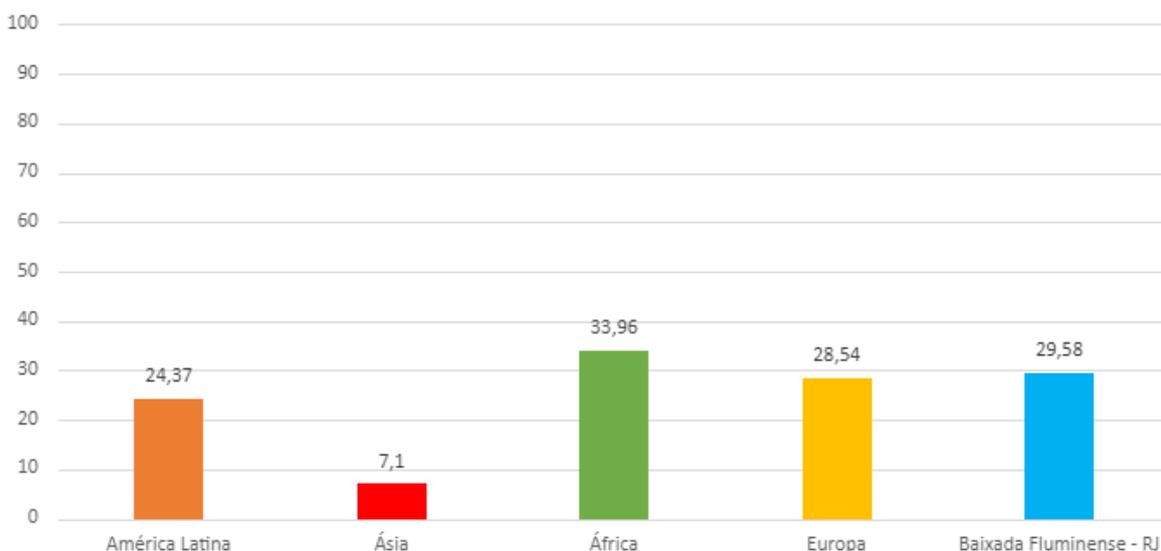
Circunferência de Cintura; CQ: circunferência de quadril; RCQ: Razão cintura-quadril; CP: circunferência de pescoço; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; Col T : colesterol total; HDL: colesterol HDL; LDL: colesterol LDL; VLDL: colesterol VLDL; Triglic: Triglicerídeos; Todos os valores das variáveis foram utilizados em forma de Log10 para realizar os cálculos. Os valores representam mediana (intervalo interquartil 25 - interquartil 75) para as variáveis sem distribuição normal.

* $p < 0,05$ *

5.6 Frequência alélica entre populações

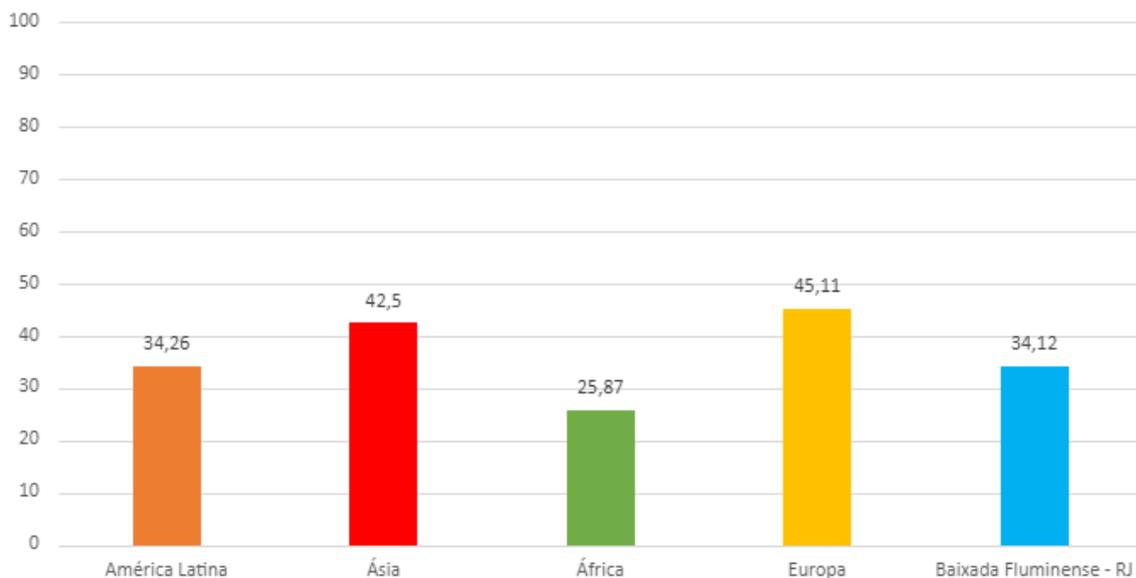
A nossa amostra de estudo revelou uma frequência alélica para o *IL1A* rs1800587 semelhante às encontradas nas populações da América Latina e Europa, superior à frequência na população asiática e inferior à africana (Gráfico 3).

Gráfico 3. Comparação da frequência (em %) do alelo A do polimorfismo rs1800587 presente no gene *IL1A* entre diferentes populações



Nota: O eixo X representa as diferentes populações e o eixo Y os valores em %. Fontes: Caxias-RJ (elaborada pelo autor); Latinoamérica, Ásia, África, Europa (GenBank)

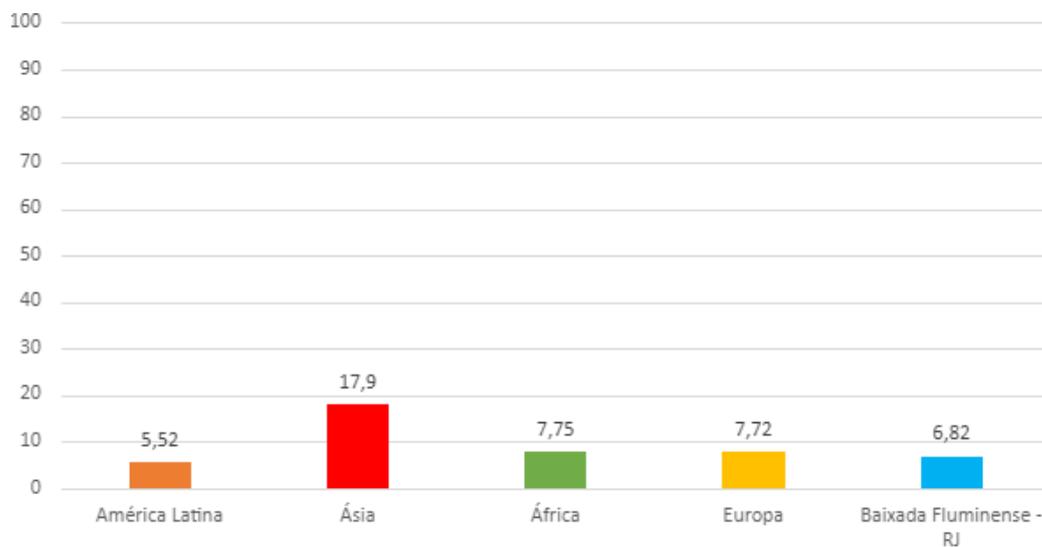
Com relação ao *IL1B* rs13032029, nossa população de estudo apresentou frequência alélica similar à população latino-americana, menor que europeia e asiática e maior que africana (Gráfico 4).



Nota: O eixo X representa as diferentes populações e o eixo Y os valores em %. Fontes: Caxias-RJ (elaborada pelo autor); Latinoamérica, Ásia, África, Europa (GenBank)

Quando avaliamos o polimorfismo do gene *IL6* (rs2069837), nossos resultados mostraram uma frequência alélica semelhante à população latino-americana, africana e europeia, enquanto a asiática apresentou uma maior frequência quando comparada com as demais populações (Gráficos 5).

Gráfico 5. Comparação da frequência (em %) do alelo G do polimorfismo rs2069837 presente no gene *IL6* entre diferentes populações



Nota: O eixo X representa as diferentes populações e o eixo Y os valores em %. Fontes: Caxias-RJ (elaborada pelo autor); Latinoamérica, Ásia, África, Europa (GenBank)

6. Discussão

Os resultados de nossa amostra apontam que existem diferenças significativas tanto nas medidas antropométricas quanto nas mensurações bioquímicas entre indivíduos com e sem obesidade. Os indivíduos com obesidade apresentaram valores maiores em todas as medidas antropométricas (peso, IMC, CC, CQ, RCQ e CP). Esse resultado já era esperado uma vez que a principal característica da obesidade é o ganho de peso e expansão/acúmulo de tecido adiposo. Também foram identificadas diferenças significativas nas aferições de pressão arterial sistólica e diastólica entre os dois grupos. A obesidade já é associada a múltiplos efeitos diretos no sistema cardiovascular, incluindo mudanças hemodinâmicas e alterações na estrutura e função cardíacas e endoteliais. Como a massa corporal em excesso na obesidade requer um aumento no volume sanguíneo total, volume sistólico e débito cardíaco, levando a um aumento no trabalho cardiovascular. Este cenário pode acarretar em dilatação e hipertrofia do ventrículo esquerdo, o que eventualmente resulta em disfunção sistólica e diastólica (Elagizi, et al., 2020). Aproximadamente 31% das pessoas com obesidade, especialmente se duradoura, desenvolvem essas mudanças estruturais e funcionais que levam à cardiomiopatia da obesidade (Koliaki, et al., 2019).

Em nossos resultados também foram encontradas diferenças significantes nos níveis de glicemia, colesterol LDL, VLDL e triglicerídeos entre os grupos de estudo. A dislipidemia é caracterizada por níveis anormais de lipídios no sangue, incluindo elevações nos níveis de colesterol total, triglicerídeos ou níveis anormais de lipoproteínas, como LDL e HDL. Esta condição está associada à obesidade, síndrome metabólica e risco de doenças cardiovasculares. No entanto, nem todos os indivíduos com obesidade apresentam essas alterações metabólicas, sendo chamados “obesos metabolicamente saudáveis” (Berberich, et al., 2022). Além disso, alterações nos níveis de citocinas e adipocinas são associadas ao desenvolvimento de dislipidemias na obesidade. Dentre esses, temos o TNF- α e IL-6 que apresentam perfil alterado em indivíduos com obesidade e possuem um importante papel no metabolismo e na inflamação (Vekic, et al., 2019). Reforçando a ideia de que os genes que codificam os mediadores inflamatórios podem influenciar alterações metabólicas, nosso estudo investigou a influência de variantes nos genes *IL6*, *IL1B*, *IL1A* e *IL10* no risco para desenvolver obesidade e alterações metabólicas.

Variante *IL1A* rs1800587

O polimorfismo *IL1A* rs1800587 apresentou resultados significativos para a associação dos alelos ($p=0,025$) e uma estimativa de risco de 56% com a condição de colesterol total elevado, enquanto a associação por genótipos não apresentou resultados significativos. Na literatura, foi reportado que esse polimorfismo está localizado na região promotora do gene, e portadores do alelo A mostraram ter uma atividade transcricional aumentada. Além disso, o genótipo “AA” foi associado a um fenótipo de CC maior em relação aos outros genótipos e também como fator protetivo para os níveis de triglicerídeos (Carter et al). Assim, os resultados apresentados por Carter e colaboradores (2008), indicam que o genótipo “AA” possui um efeito protetivo para os níveis circulantes de triglicerídeos. Apesar de não apresentar diferenças significativas, nossos resultados também apontam para menores níveis de triglicerídeos em indivíduos “AA” quando comparado com os outros genótipos. Ademais, observamos que o alelo G possui uma estimativa de risco de 56% para níveis triglicerídeos elevados ($p=0,044$). Outro estudo sobre este polimorfismo aponta uma associação com aumento de IMC em mulheres e uma maior atividade transcricional em pré-adipócitos de rato (células 3T3-L1) (UM, JAE-YOUNG, et al, 2011).

Um estudo com adolescentes mexicanos relatou uma frequência alélica de 23,1% do alelo “A” do polimorfismo rs1800857, similar ao encontrado neste estudo (MENDONZA-CARRERA, et al, 2019). Uma pesquisa realizada pelo grupo de Zhou et al. (2016) com crianças chinesas relatou uma frequência de 23,7% do alelo A, diferente em quase 20% dos dados relatados no GenBank para a população asiática. Contrapondo esse cenário, uma pesquisa avaliando a frequência genotípica do rs1800857 em uma população polonesa não conseguiu encontrar o genótipo AA, registrando a prevalência de 47% do heterozigoto CA (MACULEWICZ, et al., 2022).

***Variante IL1B* rs13032029**

Apesar da escassez de trabalhos sobre este polimorfismo em relação à obesidade e síndrome metabólica, outros polimorfismos nesse gene têm sido associados ao ganho de peso induzido por uso de antipsicóticos (FONSEKA, et al., 2015). Entretanto, nossos resultados apontam uma significância para os genótipos, e um risco para a presença do alelo “T” com

relação ao desenvolvimento de obesidade. Este trabalho é o primeiro a relacionar este polimorfismo com o desenvolvimento dessa patologia.

Nossas análises também apontaram que o alelo “T” influencia a uma maior CC, entretanto os indivíduos heterozigotos que apresentaram a maior mediana – sugerindo um efeito do heterozigoto. Na literatura, não foi encontrado dados associando este polimorfismo com a CC.

Variante *IL6* rs2069837

Para o gene *IL6* foram encontrados apenas os genótipos para o homozigoto selvagem e heterozigoto, devido ser uma variante rara. Na literatura, já foi observado um aumento nos níveis circulantes de IL-6 em mulheres com hipertensão arterial sistêmica (HAS) (CHEUNG, *et al.*, 2011), contudo em nossas análises a associação do rs2069837 com o risco de HAS não foi observada. Um estudo realizado por Wallenius e colaboradores (2002) relatou o desenvolvimento precoce da obesidade, bem como um aumento dos níveis de glicose e variáveis antropométricas em camundongos “*knock-out*” para o gene *IL6*. No entanto, nossos resultados para o polimorfismo rs2069837 não mostraram diferenças significantes em relação aos níveis de glicose entre os genótipos.

Quando realizamos as análises para a variável colesterol total, foi possível observar uma associação significativa para as distribuições genótípicas e alélicas. Entretanto, vale ressaltar que encontramos em nossa amostra apenas 1 indivíduo com alelo mutado (“G”). Portanto, os resultados podem estar sendo influenciados por problemas amostrais. Além disso, as análises realizadas para o rs2069837 sugerem que o genótipo AG possui uma relação com o aumento do nível de triglicerídeos. Por fim, ao realizar as análises de regressão linear também foram encontradas diferenças significativas para colesterol total, LDL, VLDL e triglicerídeos, ratificando os achados das análises anteriores.

Variante *IL10* rs3024497

Para o gene *IL10* foram encontrados apenas indivíduos do genótipo homozigoto selvagem (TT), portanto nenhuma análise pode ser feita com esses resultados. O alelo “C” deste gene é extremamente raro, com uma frequência de 99% em nível global, e este trabalho é o primeiro a buscar associações entre este polimorfismo com obesidade/síndrome metabólica.

7. Conclusões

▶ As frequências alélicas dos polimorfismos apresentaram percentuais bem próximos dos valores do banco de dados utilizado como referência, considerando o background étnico da população do estudo.

▶ As nossas análises com o polimorfismo *IL1A* rs1800587 apresentam resultados alinhados com os dados achados na literatura, principalmente em relação aos efeitos nos níveis de triglicerídeos circulantes.

▶ Apesar da escassez de estudos sobre o polimorfismo *IL1B* rs13032029 e obesidade/síndrome metabólica, os nossos resultados indicam que o alelo “T” possa ter uma relação com o desenvolvimento de obesidade. Porém maiores investigações são necessárias para obtenção de dados mais concretos sobre seus efeitos.

▶ O polimorfismo *IL6* rs2069837 foi o que mais apresentou resultados significantes apesar do homocigoto mutado não ter sido encontrado em nossa amostra devido a sua raridade.

▶ O gene *IL6* parece ser, entre os genes estudados neste trabalho, o com maior potencial de influenciar o metabolismo. Além disso, com base em nossos resultados e outras associações com o gene *IL6* ao metabolismo encontradas na literatura, o polimorfismo rs2069837 parece apresentar um potencial para possivelmente ser associado a uma predisposição ao desenvolvimento de comorbidades como doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) devido às alterações do perfil lipídico encontrada em nossos resultados.

8. Referências Bibliográficas

- ALBUQUERQUE, David et al. Current review of genetics of human obesity: from molecular mechanisms to an evolutionary perspective. **Molecular genetics and genomics**, v. 290, p. 1191-1221, 2015.
- ALZAMIL, Hana et al. Elevated serum TNF- α is related to obesity in type 2 diabetes mellitus and is associated with glycemic control and insulin resistance. **Journal of obesity**, v. 2020, 2020.
- AHMED, Bulbul; SULTANA, Rifat; GREENE, Michael W. Adipose tissue and insulin resistance in obese. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 137, p. 111315, 2021.
- BALLAK, Dov B. et al. IL-1 family members in the pathogenesis and treatment of metabolic disease: Focus on adipose tissue inflammation and insulin resistance. **Cytokine**, v. 75, n. 2, p. 280-290, 2015.
- BERBERICH, Amanda J.; HEGELE, Robert A. A modern approach to dyslipidemia. **Endocrine Reviews**, v. 43, n. 4, p. 611-653, 2022.
- BRAY, George A. (Ed.). **Handbook of Obesity--Volume 1: Epidemiology, Etiology, and Physiopathology**. CRC Press, 2014.
- CARTER, Kim W. et al. Association of Interleukin-1 gene polymorphisms with central obesity and metabolic syndrome in a coronary heart disease population. **Human genetics**, v. 124, p. 199-206, 2008.
- CORVERA, Silvia; SOLIVAN-RIVERA, Javier; YANG LOUREIRO, Zinger. Angiogenesis in adipose tissue and obesity. **Angiogenesis**, v. 25, n. 4, p. 439-453, 2022.
- CHEUNG, Bernard MY et al. Relationship of plasma interleukin-6 and its genetic variants with hypertension in Hong Kong Chinese. **American journal of hypertension**, v. 24, n. 12, p. 1331-1337, 2011.
- CHEN, Tzu-Hua et al. The association of serum TNF- α levels and blood multi-elements modified by TNF- α gene polymorphisms in metal industrial workers. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 21, p. 4079, 2019.
- CUMMINGS, David E.; SCHWARTZ, Michael W. Genetics and pathophysiology of human obesity. **Annual review of medicine**, v. 54, n. 1, p. 453-471, 2003.
- DANTAS, Rafaela Ramos; SILVA, Giselia Alves Pontes da. O papel do ambiente obesogênico e dos estilos de vida parentais no comportamento alimentar infantil. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 37, p. 363-371, 2019.
- DAMGAARD, Christian et al. Porphyromonas gingivalis-induced production of reactive oxygen species, tumor necrosis factor- α , interleukin-6, CXCL 8 and CCL 2 by neutrophils from localized aggressive periodontitis and healthy donors: modulating actions of red blood cells and resolvin E1. **Journal of Periodontal Research**, v. 52, n. 2, p. 246-254, 2017.
- DE SOUZA OLIVEIRA, Ana Kariany; CASTRO, Larissa Alves; DE ALMEIDA, Simone Gonçalves. A influência midiática em pré-escolares e escolares com obesidade infantil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, p. e358111638302-e358111638302, 2022.
- DIELS, Sara; VANDEN BERGHE, Wim; VAN HUL, Wim. Insights into the multifactorial causation of obesity by integrated genetic and epigenetic analysis. **Obesity Reviews**, v. 21, n. 7, p. e13019, 2020.
- DINARELLO, C. A. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease.
- DING, Cheng et al. TNF- α gene promoter polymorphisms contribute to periodontitis susceptibility: evidence from 46 studies. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, n. 8, p. 748-759, 2014.

- DUAN, Yamei et al. Association of inflammatory cytokines with non-alcoholic fatty liver disease. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 880298, 2022.
- ECKEL, Nathalie et al. Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90 257 women (the Nurses' Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. **The lancet Diabetes & endocrinology**, v. 6, n. 9, p. 714-724, 2018.
- ELAGIZI, Andrew et al. A review of obesity, physical activity, and cardiovascular disease. **Current obesity reports**, v. 9, p. 571-581, 2020.
- FAROOQI, I. Sadaf; O'RAHILLY, Stephen. Monogenic obesity in humans. **Annu. Rev. Med.**, v. 56, p. 443-458, 2005.
- FAROOQI, I. Sadaf; O'RAHILLY, Stephen. Mutations in ligands and receptors of the leptin–melanocortin pathway that lead to obesity. **Nature clinical practice Endocrinology & metabolism**, v. 4, n. 10, p. 569-577, 2008.
- FERREIRA, Carolina Muller et al. Prevalence of childhood obesity in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Jornal de pediatria**, v. 97, p. 490-499, 2021.
- FONSEKA, Trehani M. et al. The role of genetic variation across IL-1 β , IL-2, IL-6, and BDNF in antipsychotic-induced weight gain. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 16, n. 1, p. 45-56, 2015.
- FRANCQUE, Sven M. et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. **JHEP Reports**, v. 3, n. 5, p. 100322, 2021.
- Global Burden of Disease 2015 Obesity Collaborators. . Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. **New England journal of medicine**, v. 377, n. 1, p. 13-27, 2017.
- GONG, Bo et al. A genetic variant in IL-6 lowering its expression is protective for critical patients with COVID-19. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 112, 2022.
- GOODARZI, Mark O. Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. **The lancet Diabetes & endocrinology**, v. 6, n. 3, p. 223-236, 2018.
- IKEDA, Kenji; MARETICH, Pema; KAJIMURA, Shingo. The common and distinct features of brown and beige adipocytes. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 29, n. 3, p. 191-200, 2018.
- IZAOLA, Olatz et al. Inflamación y obesidad (lipoinflamación). **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 6, p. 2352-2358, 2015.
- KAWAI, Tatsuo; AUTIERI, Michael V.; SCALIA, Rosario. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 320, n. 3, p. C375-C391, 2021.
- KERSHAW, Erin E.; FLIER, Jeffrey S. Adipose tissue as an endocrine organ. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2548-2556, 2004.
- KHANNA, Deepesh et al. Obesity: a chronic low-grade inflammation and its markers. **Cureus**, v. 14, n. 2, 2022.
- MICHAILIDOU, Zoi. Fundamental roles for hypoxia signalling in adipose tissue metabolism and inflammation in obesity. **Current Opinion in Physiology**, v. 12, p. 39-43, 2019.
- MACULEWICZ, Ewelina et al. The interactions between interleukin-1 family genes: *IL1A*, *IL1B*, *IL1RN*, and obesity parameters. **BMC genomics**, v. 23, n. 1, p. 1-12, 2022.
- MAHAJAN, Anubha et al. Obesity-dependent association of TNF-LTA locus with type 2 diabetes in North Indians. **Journal of molecular medicine**, v. 88, p. 515-522, 2010.

- MARCELIN, Geneviève; GAUTIER, Emmanuel L.; CLÉMENT, Karine. Adipose tissue fibrosis in obesity: etiology and challenges. **Annual Review of Physiology**, v. 84, p. 135-155, 2022.
- MAYORAL, Laura Perez-Campos et al. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **The Indian journal of medical research**, v. 151, n. 1, p. 11, 2020.
- MENDOZA-CARRERA, Francisco et al. Interleukin-1 alpha polymorphisms are associated with body mass index in male but not in female adolescents. **Archives of Medical Research**, v. 50, n. 3, p. 151-157, 2019.
- MIGLIORINI, Paola et al. The IL-1 family cytokines and receptors in autoimmune diseases. **Autoimmunity reviews**, v. 19, n. 9, p. 102617, 2020.
- MIKHAILOVA, Svetlana V.; IVANOSHCHUK, Dinara E. Innate-immunity genes in obesity. **Journal of Personalized Medicine**, v. 11, n. 11, p. 1201, 2021.
- MONTEIRO, Rosário et al. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. **Mediators of inflammation**, v. 2010, 2010.
- OUYANG, Wenjun et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, v. 29, p. 71-109, 2011.
- LANGLEY-EVANS, Simon C.; PEARCE, Jo; ELLIS, Sarah. Overweight, obesity and excessive weight gain in pregnancy as risk factors for adverse pregnancy outcomes: a narrative review. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 35, n. 2, p. 250-264, 2022.
- KOENEN, Mascha et al. Obesity, adipose tissue and vascular dysfunction. **Circulation research**, v. 128, n. 7, p. 951-968, 2021.
- KOLIAKI, Chrysi; LIATIS, Stavros; KOKKINOS, Alexander. Obesity and cardiovascular disease: revisiting an old relationship. **Metabolism**, v. 92, p. 98-107, 2019.
- Hannah Ritchie and Max Roser (2017) - "**Obesity**". **Published online at OurWorldInData.org**. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/obesity>'
- HEINONEN, S. et al. Adipocyte morphology and implications for metabolic derangements in acquired obesity. **International journal of obesity**, v. 38, n. 11, p. 1423-1431, 2014.
- LANGLEY-EVANS, Simon C.; PEARCE, Jo; ELLIS, Sarah. Overweight, obesity and excessive weight gain in pregnancy as risk factors for adverse pregnancy outcomes: a narrative review. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 35, n. 2, p. 250-264, 2022.
- LEE, Eunyoung; KORF, Hannelie; VIDAL-PUIG, Antonio. An adipocentric perspective on the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*, v. 78, n. 5, p. 1048-1062, 2023.
- LEHR, Stefan; HARTWIG, Sonja; SELL, Henrike. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. **PROTEOMICS–Clinical Applications**, v. 6, n. 1-2, p. 91-101, 2012.
- LIU, Fangcen et al. Adipose morphology: a critical factor in regulation of human metabolic diseases and adipose tissue dysfunction. **Obesity surgery**, v. 30, p. 5086-5100, 2020.
- LOBSTEIN, Tim; BRINSDEN, Hannah; NEVEUX, Margot. **World obesity atlas 2022**. 2022.
- LONGO, Michele et al. Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. *International journal of molecular sciences*, v. 20, n. 9, p. 2358, 2019.
- LOOS, Ruth JF; YEO, Giles SH. The genetics of obesity: from discovery to biology. **Nature Reviews Genetics**, v. 23, n. 2, p. 120-133, 2022.
- RAMÍREZ-MORENO, Esther et al. Role of Bioactive Compounds in Obesity: Metabolic Mechanism Focused on Inflammation. **Foods**, v. 11, n. 9, p. 1232, 2022.

- REN, Yakun et al. Adipokines, hepatokines and myokines: focus on their role and molecular mechanisms in adipose tissue inflammation. *Frontiers in endocrinology*, v. 13, p. 873699, 2022.
- ROHDE, Kerstin et al. Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism*, v. 92, p. 37-50, 2019.
- SARAIVA, Margarida; VIEIRA, Paulo; O’GARRA, Anne. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *Journal of Experimental Medicine*, v. 217, n. 1, p. e20190418, 2019.
- SERRA, Monica C. et al. High adipose LPL activity and adipocyte hypertrophy reduce visceral fat and metabolic risk in obese, older women. *Obesity*, v. 23, n. 3, p. 602-607, 2015.
- SPEAKER, Kristin J.; FLESHNER, Monika. Interleukin-1 beta: a potential link between stress and the development of visceral obesity. *BMC physiology*, v. 12, p. 1-15, 2012.
- SUN, Kai et al. Adipose tissue remodeling and obesity. *The Journal of clinical investigation*, v. 121, n. 6, p. 2094-2101, 2011.
- SWINBURN, Boyd A. et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *The lancet*, v. 378, n. 9793, p. 804-814, 2011.
- TAYLOR, Erin B. The complex role of adipokines in obesity, inflammation, and autoimmunity. *Clinical Science*, v. 135, n. 6, p. 731-752, 2021.
- TRANG, Khanh; GRANT, Struan FA. Genetics and epigenetics in the obesity phenotyping scenario. *Reviews in endocrine and metabolic disorders*, v. 24, n. 5, p. 775-793, 2023.
- TRAYHURN, Paul. Adipocyte biology. *Clinical Obesity in Adults and Children*, p. 103-114, 2009.
- Trayhurn, P., & Wood, I. S. (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, 92(03), 347-355.
- UM, Jae-Young et al. Functional polymorphism of IL-1 alpha and its potential role in obesity in humans and mice. *PloS one*, v. 6, n. 12, p. e29524, 2011.
- UNAMUNO, Xabier et al. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *European journal of clinical investigation*, v. 48, n. 9, p. e12997, 2018.
- VEKIC, Jelena et al. Obesity and dyslipidemia. *Metabolism*, v. 92, p. 71-81, 2019.
- VOS, Niels et al. Bariatric surgery for monogenic non-syndromic and syndromic obesity disorders. *Current diabetes reports*, v. 20, p. 1-10, 2020.
- WALLENIUS, Ville et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nature medicine*, v. 8, n. 1, p. 75-79, 2002.
- WALLEY, Andrew J.; ASHER, Julian E.; FROGUEL, Philippe. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nature Reviews Genetics*, v. 10, n. 7, p. 431-442, 2009.
- WANG, Tiantian; HE, Chengqi. Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis. *Cytokine & growth factor reviews*, v. 44, p. 38-50, 2018.
- WOLVEKAMP, Monique CJ; MARQUET, Richard L. Interleukin-6: historical background, genetics and biological significance. *Immunology letters*, v. 24, n. 1, p. 1-9, 1990.
- World Obesity Federation, World Obesity Atlas 2023.
- ZORENA, Katarzyna et al. Adipokines and obesity. Potential link to metabolic disorders and chronic complications. *International journal of molecular sciences*, v. 21, n. 10, p. 3570, 2020.
- ZHOU, X. et al. Association of IL-1alpha gene polymorphism with susceptibility to type 1 diabetes in Chinese children. *Genet Mol Res*, v. 15, n. 3, p. 10.4238, 2016.