

**MARIANE ALVES SILVA**

**POLIMORFISMOS NOS GENES *FTO*, *MC4R* E *MTMR9* E SUAS  
ASSOCIAÇÕES COM O RISCO CARDIOMETABÓLICO E DIETA  
INFLAMATÓRIA NA INFÂNCIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Juliana Farias de Novaes

Coorientadoras: Sarah Aparecida Vieira Ribeiro  
Sylvia do Carmo Castro Franceschini

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586p  
2020  
Silva, Mariane Alves, 1993-

Polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* e suas associações com o risco cardiometabólico e dieta inflamatória na infância / Mariane Alves Silva. – Viçosa, MG, 2020.

111 f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Juliana Farias de Novaes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Doenças cardiovasculares. 2. Crianças. 3. Polimorfismo (Genética). 4. Dieta. 5. Dislipidemias. 6. Inflamação.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição.

II. Título.

CDD 22. ed. 618.9212

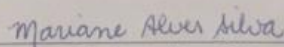
MARIANE ALVES SILVA

POLIMORFISMOS NOS GENES *FTO*, *MC4R* E *MTMR9* E SUAS  
ASSOCIAÇÕES COM O RISCO CARDIOMETABÓLICO E DIETA  
INFLAMATÓRIA NA INFÂNCIA

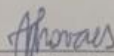
Tese apresentada à Universidade Federal de  
Viçosa, como parte das exigências do Programa  
de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para  
obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 18 de dezembro de 2020.

Assentimento:



\_\_\_\_\_  
Mariane Alves Silva  
Autora



\_\_\_\_\_  
Juliana Farias de Novaes  
Orientadora

Dedido essa conquista aos meus pais,  
Mônica e Marcelino, minha irmã Maysa,  
meu namorado Gabriel e todos amigos,  
meus grandes incentivadores.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por todas as oportunidades que me foram concedidas e pela realização de um sonho. Obrigado Senhor por me conduzir sempre em todos os momentos e decisões.

Agradeço também aos meus pais, Mônica e Marcelino, meus exemplos de vida, por todo amor, paciência e dedicação. Vocês foram os primeiros a acreditar em mim e espero sempre poder retribuir tanto carinho e compaixão. Essa conquista também é de vocês!

À minha única e amada irmã Maysa, companheira de todos os dias. Obrigada por se fazer tão presente na minha vida, vibrando a cada conquista. Meus dias são mais alegres ao seu lado.

Ao Gabriel, meu namorado, sempre torcendo por mim, me apoiando e ajudando nos momentos de dificuldades. Obrigada pelo companheirismo e por sempre me fazer acreditar que tudo daria certo.

A todos os familiares, os meus sinceros agradecimentos por todo apoio e torcida ao longo dessa caminhada, em especial à minha avó Tereza. Aos meus outros avós (Silvio, Geralda e José), agradeço, pois mesmo não estando mais junto de nós, são exemplos de vida para mim.

Às queridas amigas da pós-graduação, por tornarem a rotina do doutorado mais leve. À Marcela, companheira desde a graduação, foi bom partilhar com você mais essa etapa.

À Maíra, minha companheira de coleta de dados, obrigada pela ajuda, paciência e compreensão. Sua amizade foi um grande presente do doutorado.

Às Pasetes, Luana, Mariana, Naruna, Lara, Ana Paula e Alice, eu sou grata pelo acolhimento e carinho. Vocês tornaram a caminhada mais leve. Muito obrigada por toda ajuda.

A minha enorme gratidão à minha querida orientadora Juliana. Sou grata pela confiança depositada ao aceitar me orientar, pela compreensão e parceria. Obrigada por me ensinar os caminhos da docência com leveza e olhar humano. Trabalhar ao seu lado foi um privilégio.

À querida professora Sylvia, coorientadora, pelas oportunidades, apoio e compreensão, desde a época da graduação. Obrigada por ter acreditado em mim. Foi um prazer poder trabalhar com você.

À querida Sarah, coorientadora, pela amizade, atenção, disponibilidade e contribuição no meu crescimento profissional. Sou muito grata pelo incentivo e apoio ao longo dessa trajetória.

Ao professor Jorge Gustavo, agradeço pela oportunidade do trabalho, disponibilidade e contribuições.

Aos professores do Departamento de Nutrição e Saúde por todos os ensinamentos.

Agradeço a todos os pais e crianças que participaram deste estudo, sem a participação e disponibilidade de vocês este trabalho não seria possível.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste estudo.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência da Nutrição e a Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela oportunidade de tamanho crescimento profissional.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui, o meu muito obrigado.

## **BIOGRAFIA**

MARIANE ALVES SILVA, filha de Marcelino Correa da Silva e Mônica Aparecida Alves da Silva, nasceu em 19 de maio de 1993, em São Paulo, SP.

Em março de 2011 ingressou no Curso de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa (UFV), graduando-se nutricionista em janeiro de 2016.

Em março de 2016, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição da UFV, em nível de mestrado, submetendo-se a defesa da Dissertação em fevereiro de 2018.

Em março do mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição da UFV. Defendeu sua tese em dezembro de 2020.

## RESUMO

SILVA, Mariane Alves, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2020. **Polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* e suas associações com o risco cardiometabólico e dieta inflamatória na infância.** Orientadora: Juliana Farias de Novaes. Coorientadoras: Sarah Aparecida Vieira Ribeiro e Sylvia do Carmo Castro Franceschini.

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no mundo. Entre os fatores de risco relacionados ao risco cardiometabólico têm-se os hábitos alimentares, com o consumo de uma dieta pró-inflamatória, e os fatores genéticos. O *Fat Mass and Obesity Associated (FTO)*, Receptores de Melanocortinas Tipos 4 (*MC4R*) e Proteína relacionada a miotubularina (*MTMR9*) são genes responsáveis pelo controle das preferências e ingestão alimentar, e por consequência do peso corporal e outras desordens metabólicas. Entender a relação entre os fatores ambientais e genéticos é de grande importância para que as intervenções sejam mais efetivas. Diante disso, o objetivo deste estudo é avaliar a associação dos polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* com o risco cardiometabólico e o perfil inflamatório da dieta em crianças. Trata-se de um estudo transversal, com crianças de 4 a 9 anos, avaliadas no Programa de Apoio à Lactação (PROLAC) e na Pesquisa de Avaliação da Saúde do Escolar (PASE). O material genético foi coletado pelo *swab* bucal e realizada a genotipagem dos polimorfismos rs9939609 do gene *FTO*, rs17782313 próximo ao gene *MC4R* e rs2293855 do gene *MTMR9*. Foi realizada avaliação antropométrica (peso e altura) e da composição corporal (% gordura corporal total). O risco aterogênico foi avaliado por meio dos marcadores de dislipidemias, tais como colesterol total, HDL-c, LDL-c, triglicerídeos, índices de Castelli I (CT/HDL-c) e II (LDL-c/HDL-c), coeficiente aterogênico (CA), índice de combinação de lipoproteína (LCI) e índice aterogênico do plasma (AIP). Foi aplicado um questionário semiestruturado contendo questões referentes a dados sociodemográficos e de estilo de vida, além de Recordatórios 24 horas (R24H) e Registros Alimentares, em dias não consecutivos. A partir dos inquéritos alimentares foi realizado o cálculo do Índice Inflamatório da Dieta Infantil (IID-I). Observou-se que o alelo de risco do gene *MTMR9* foi negativamente associado ao HDL-c e positivamente relacionado aos marcadores de dislipidemias (TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c e AC). Crianças com pelo menos um polimorfismo no escore genético foram negativamente associadas ao HDL-c e

positivamente associadas ao CT/HDL-c, AC, LCI, AIP e IID-I. O alelo de risco do gene *FTO* também foi associado a maiores valores do IID-I. Os resultados desse estudo apontam que os genes estão associados ao maior risco cardiometabólico e à dieta pró-inflamatória na infância. O alelo de risco do gene *MTMR9* e o escore genético foram associados ao maior risco aterogênico, e o alelo de risco do gene *FTO* associado ao consumo de uma dieta mais pró-inflamatória.

**Palavras-chave:** Crianças. Polimorfismos genéticos. Dieta. Dislipidemia. Doenças cardiovasculares. Inflamação.

## ABSTRACT

SILVA, Mariane Alves, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2020. **Polymorphisms in the *FTO*, *MC4R* and *MTMR9* genes and their associations with cardiometabolic risk and inflammatory diet in childhood.** Adviser: Juliana Farias de Novaes. Co-advisers: Sarah Aparecida Vieira Ribeiro and Sylvia do Carmo Castro Franceschini.

Cardiovascular diseases are the main causes of mortality from chronic non-communicable diseases in the world. Among the risk factors related to cardiometabolic risk are eating habits, with the consumption of a pro-inflammatory diet, and genetic factors. Fat Mass and Obesity Associated (*FTO*), Melanocortin Receptors Types 4 (*MC4R*) and Myotubularin-related Protein (*MTMR9*) are genes responsible for controlling preference and food intake, and as a consequence of body weight and other metabolic disorders. Understanding the relationship between environmental and genetic factors is of great importance so that actions are more effective. Therefore, the aim of this study is to evaluate an association of polymorphisms in the *FTO*, *MC4R* and *MTMR9* genes with cardiometabolic risk and the inflammatory profile of the diet in children. This is a cross-sectional study, with children from 4 to 9 years old, evaluated in the Lactation Support Program (PROLAC) and in the Student Health Assessment Survey (PASE). The genetic material was collected by the oral swab and genotyped polymorphisms rs9939609 of the *FTO* gene, rs17782313 next to the *MC4R* gene and rs2293855 of the *MTMR9* gene. Anthropometric assessment (weight and height) and body composition (% total body fat) were performed. Atherogenic risk was assessed using dyslipidemia markers, such as total cholesterol, HDL-c, LDL-c, triglycerides, Castelli I (CT/HDL-c) and II (LDL-c/HDL-c) indexes, atherogenic coefficient (CA), lipoprotein combination index (LCI) and plasma atherogenic index (AIP). A semi-structured questionnaire was applied containing questions related to sociodemographic and lifestyle data, in addition to 24-hour recalls (R24H) and Food Records, on non-consecutive days. From the food surveys, the Inflammatory Index of the Infant Diet (IID-I) was calculated. It was observed that the risk allele of the *MTMR9* gene was negatively associated with HDL-c and positively related to dyslipidemia markers (TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c and AC). Children with at least one polymorphism in the genetic score were negatively associated with HDL-c and positively associated with CT/HDL-c, AC, LCI, AIP and IID-I. The risk allele of the *FTO* gene was also

associated with higher IID-I values. The results of this study indicate that the genes are associated with a higher cardiometabolic risk and with a pro-inflammatory diet in childhood. The risk allele of the *MTMR9* gene and the genetic score were associated with a higher atherogenic risk, and the risk allele of the *FTO* gene associated with the consumption of a more pro-inflammatory diet.

**Keywords:** Children. Polymorphism genetic. Diet. Dyslipidemias. Cardiovascular disease. Inflammation.

## LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1.	Localização do gene <i>FTO</i> .....	26
Figura 2.	Localização do gene <i>MC4R</i> .....	31

### METODOLOGIA

Figura 3.	Fluxograma da coleta de dados.....	52
Figura 4.	Etapas da coleta de dados, com suas respectivas perdas.....	54
Figura 5.	Fluxograma para a coleta de dados no projeto “Determinantes genéticos” .....	57
Quadro 1.	Características dos polimorfismos estudados.....	59
Quadro 2.	Variáveis analisadas neste projeto.....	64

### ARTIGO ORIGINAL 1

Table 1.	Dyslipidemia markers by sociodemographic, anthropometric, body composition and lifestyle characteristics in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	84
Supplement. Continuation.	Dyslipidemia markers by sociodemographic, anthropometric, body composition and lifestyle characteristics in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	85
Table 2.	Association between the risk allele of the <i>FTO</i> gene and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	86
Table 3.	Association between the risk allele of the <i>MC4R</i> gene and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	87
Table 4.	Association between the risk allele of the <i>MTMR9</i> gene and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	88
Table 5.	Association between the risk allele of the genetic score and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	89

### ARTIGO ORIGINAL 2

Figure 1.	Figure 1. Association between <i>FTO</i> gene and genetic score and the C-DII in schoolchildren from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.....	99
-----------	--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Percentual
AC	<i>tradução</i> de Coeficiente aterogênico
AIP	<i>tradução</i> de Índice aterogênico do plasma
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
CVD	<i>tradução</i> de Doença cardiovascular
DXA	<i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i>
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
<i>FTO</i>	<i>Fat Mass and Obesity Associated</i>
GWAS	<i>Genome Wide Association Studies</i>
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
IC95%	Intervalo de confiança de 95%
IID	Índice Inflamatório da Dieta
IID-I	Índice Inflamatório da Dieta Infantil
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IMC	Índice de Massa Corporal
LCI	<i>tradução</i> de Índice combinado de lipoproteína
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
<i>MC1R</i>	Receptores de Melanocortinas Tipos 1
<i>MC4R</i>	Receptores de Melanocortinas Tipos 4
<i>MC5R</i>	Receptores de Melanocortinas Tipos 5
<i>MTMR1</i>	Proteína relacionada a miotubularina Tipo 1
<i>MTMR6</i>	Proteína relacionada a miotubularina Tipo 6
<i>MTMR7</i>	Proteína relacionada a miotubularina Tipo 7
<i>MTMR9</i>	Proteína relacionada a miotubularina Tipo 9
<i>MTMR13</i>	Proteína relacionada a miotubularina Tipo 13
N	Tamanho amostral
PASE	Pesquisa de Avaliação da Saúde do Escolar

PCR	Proteína C reativa
PROLAC	Programa de Apoio à lactação
R24H	Recordatório de 24 horas
RBP-4	<i>Retinol-binding protein 4</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF	Fator de necrose tumoral
TC	<i>tradução</i> de Colesterol total
TG	Triglicerídeos
UFV	Universidade Federal de Viçosa
USDA	Tabela de Composição dos Alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
WHO	Organização Mundial de Saúde

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	21
2.1 Risco cardiometabólico na infância.....	21
2.2 Perfil inflamatório da alimentação e risco cardiometabólico .....	22
2.3 Genômica Nutricional.....	25
2.3.1 Fat mass and Obesity Associated ( <i>FTO</i> ) .....	26
2.3.2 Receptores de Melanocortinas Tipos 4 ( <i>MC4R</i> ).....	30
2.3.3 Proteína relacionada a Miotubularina – 9 ( <i>MTMR9</i> ).....	34
3. JUSTIFICATIVA .....	48
4. OBJETIVOS .....	49
4.1 Objetivo Geral: .....	49
4.2 Objetivos Específicos: .....	49
5. METODOLOGIA GERAL.....	50
5.1. Características do estudo .....	50
5.2 Pesquisa de Avaliação da Saúde do Escolar (PASE) .....	50
5.2.1. Delineamento do estudo e casuística .....	50
5.2.2 Aspectos éticos .....	51
5.2.3 Tamanho e processo de amostragem .....	51
5.2.4 Coleta de dados .....	52
5.3. Programa de Apoio à Lactação (PROLAC) .....	53
5.3.1. Delineamento do estudo e casuística .....	53
5.3.2 Aspectos éticos .....	54
5.3.3 Coleta de dados .....	54
5.4. Projeto Determinantes genéticos .....	55
5.4.1. Delineamento do estudo e casuística .....	55
5.4.2. Aspectos éticos .....	55
5.4.3 Coleta de dados .....	55
5.4.4. Cálculo do poder do estudo .....	57
5.4.5 Coleta do swab bucal .....	57
5.4.6 Extração do DNA.....	58
5.4.7 Genotipagem dos polimorfismos dos genes <i>FTO</i> , <i>MC4R</i> e <i>MTMR9</i> .....	58
5.4.8 Escore de risco genético .....	59
5.4.9 Variáveis do estudo PASE e PROLAC .....	60
5.4.9.1 Avaliação sociodemográfica.....	60
5.4.9.2 Avaliação do consumo alimentar.....	60

5.4.9.2.1 Avaliação do índice inflamatório da dieta infantil (IID-I).....	61
5.4.9.3. Avaliação antropométrica e da composição corporal.....	62
5.4.9.4. Avaliação do comportamento sedentário.....	63
5.4.9.5. Avaliação bioquímica.....	63
5.4.10 Variáveis do estudo.....	63
5.4.11 Retorno aos participantes.....	64
5.5 Análises Estatísticas.....	65
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
6.1 Artigo original 1.....	69
6.2 Artigo Original 2 – Short communication.....	90
7. CONCLUSÕES GERAIS.....	100
8. ANEXOS.....	101
ANEXO A.....	101
ANEXO B.....	105
ANEXO C.....	108

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no mundo (GBD, 2017) e estão associadas a diversas desordens metabólicas, tais como a obesidade, resistência insulínica, dislipidemia e hipertensão arterial (SKINNER et al., 2016; ABESO, 2016; FALUDI et al., 2017; PRÉCOMA et al., 2019). Essas alterações são evidenciadas em estágios de vida cada vez mais precoces (BAKER et al., 2007; REILLY et al., 2011; TIROSH et al., 2011). Estudo de revisão encontrou uma prevalência de 6 a 39% de síndrome metabólica em crianças e adolescentes, ou seja, indivíduos que apresentavam concomitantemente pelo menos três das desordens metabólicas citadas anteriormente (WEIHE et al., 2019).

Entre os fatores de risco modificáveis relacionados ao risco cardiometabólico, têm-se as mudanças dos hábitos alimentares (SUHETT et al., 2020). De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar houve um aumento no consumo de alimentos não saudáveis, como as frituras, embutidos, guloseimas e refrigerantes (IBGE, 2015) e como consequência a ingestão de uma dieta pró-inflamatória (NEUSTADT, 2006). Entre as formas de avaliação do consumo alimentar tem-se o Índice Inflamatório da Dieta Infantil (IID-I), que foi criado e validado com o objetivo de avaliar o perfil inflamatório da dieta no público pediátrico. Este índice leva em consideração diversos componentes (alimentos e nutrientes) e classifica a alimentação em antiinflamatória ou pró-inflamatória (KHAN et al., 2018).

Além dos hábitos alimentares e estilo de vida, os fatores genéticos exercem grande influência no desenvolvimento das doenças cardiometabólicas (FERNANDES et al., 2015; PETTERMON et al., 2018). A genômica nutricional tem sido apontada como uma ferramenta útil para o melhor entendimento do binômio saúde-doença (HERMSDORFF et al., 2018). De acordo com o Mapa Genético da Obesidade Humana, existem 127 genes associados ao excesso de peso (RANKINEM et al., 2006). Dentre eles, destaca-se o *Fat Mass and Obesity Associated (FTO)*, Receptores de Melanocortinas Tipos 4 (*MC4R*) e Proteína relacionada a miotubularina (*MTMR9*), que além da associação com a obesidade (FRAYLING et al., 2007; QI et al., 2008), também foram relacionados ao diabetes mellitus tipo 2 (DINA et al., 2007; CHAMBERS et al., 2008; RUSSELL et al., 2011), hipertensão arterial (XI et al., 2013), dislipidemia

(SIKHAYEVA et al., 2017), inflamação (WU et al., 2017) e outras alterações cardiometabólicas, inclusive no público pediátrico (DUICU et al., 2016; LAURIA et al., 2016; ALMEIDA et al., 2018).

Nesse contexto, torna-se importante avaliar a tríade gene-alimentação-doença, pois os componentes da dieta podem ter efeito modulador nos fenótipos, a depender do genótipo do indivíduo. A partir desse entendimento, é possível conhecer o processo de desenvolvimento da doença, mesmo em fases iniciais da vida e atuar de maneira precoce na prevenção das doenças cardiometabólicas. Ressalta-se ainda, que é possível auxiliar profissionais de saúde na prática clínica, a entender porque os indivíduos apresentam respostas diferentes quando submetidos a uma mesma intervenção (STEEMBURGO et al., 2009). No entanto, os estudos com essa temática ainda são escassos e, muitas vezes, contraditórios (CECIL et al., 2008; SOVIO et al., 2011).

Nossa hipótese é que, os polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* estão associados ao consumo de uma dieta pró-inflamatória e ao maior risco cardiometabólico em crianças. Ainda, acredita-se que crianças com um ou mais polimorfismo genético apresentam uma alimentação de pior qualidade (pró-inflamatória) e maior risco para desfechos cardiometabólicos.

## 1.1 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S. M., FURTADO, J. M., MASCARENHAS, P., FERRAZ, M. E., FERRIERA, J. C., MONTEIRO, M. P., et al. Association between LEPR, FTO, MC4R, and PPARG-2 polymorphisms with obesity traits and metabolic phenotypes in school-aged children. **Endocrine**, v.60, p.466-478, 2018.

BAKER, J. L., OLSEN, L. W., SORENSEN, T. I. A. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. **The New England journal of medicine**, v.357, p.2329–37, 2007.

CECIL, J.E., TAVENDALE, R., WATT, P., HETHERINGTON, M. M., PALMER C. N. A. An Obesity-Associated *FTO* Gene Variant and Increased Energy Intake in Children. **The New England Journal of Medicine**, 2008.

CHAMBERS, J.C., ELLIOTT, P., ZABANEH, D., ZHANG, W., LI, Y., FROGUEL, P., et al. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. **Nature Genetics**, v.40, p.716–718, 2008.

DINA, C., MEYRE, D., GALLINA, S., DURAND, E., KORNER, A., JACOBSON, P., et al. Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity. **Nature Genetics**, v.39, p.724–726, 2007.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE (ABESO) - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. – 4.ed. - São Paulo, SP, 2016.

DUICU, C., MARGINEAN, C. O., VOIDAZAN, S., TRIPON, F., BANESCU, C. *FTO* rs 9939609 SNP Is Associated with Adiponectin and Leptin Levels and the Risk of Obesity in a Cohort of Romanian Children Population. **Medicine**, v.95, n.20, 2016.

FALUDI, A. A., IZAR, M. C., SARAIVA, J. F., CHACRA, A. P., BIANCO, H. T., AFIUNE-NETO, A., et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v.109, n.2, p1-76, 2017.

FERNANDES, A. E., MELO, M. E., FUJIWARA C. T. H., PIOLTINE, M. B., MATIOLI, S. R., SANTOS, A. et al. Associations between a common variant near the MC4R gene and serum triglyceride levels in an obese pediatric cohort. **Endocrine**, v.49, p.653–658, 2015.

FRAYLING, T.M., TIMPSON, N.J., WEEDON, M.N., ZEGGINI, E., FREATHY, R. M., LINDGREN, C. M., et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. **Science**, v.316, p.889–893, 2007.

GBD Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980- 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet**, v.390, p.1151–210, 2017.

HERMSDORFF, H.H.M. et al. (Nutri)genética e (Nutri)epigenética na infância. In: Franceschini SC et al. *Nutrição e saúde da criança*. Rio de Janeiro: Rúbio; 2018. 467-482.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar**. Brasília: IBGE, 2015.

KHAN S. M., WIRTH, M. D., ORTAGLIA, A., ALVARADO, C. R., SHIVAPPA, N., HURLEY, T. G., et al. Design, development and construct validation of the children's dietary inflammatory index. **Nutrients**, v.10, n.8, p.993, 2018.

LAURIA, F., SIANI, A., PICÓ, C., AHRENS, W., BAMMANN, K., HENAUW, S., et al. A Common Variant and the Transcript Levels of MC4R Gene Are Associated with Adiposity in Children: The IDEFICS Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.10, n.11, p.4229-4236, 2016.

NEUSTADT, J. Western diet and inflammation. **Integrative Medicine**, v.5, n.4, p.14-18, 2006.

PETERMANN, F., VILLAGRAN, M., TRONCOSO, C., MARDONES, L., LEIVA, A. N., MARTÍNEZ, M. A., et al. Asociación entre el polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* y marcadores de adiposidad em población adulta chilena. **Revista médica de Chile**, v.146, p.717 – 726, 2018.

PRÉCOMA, D. B., OLIVEIRA, G. M. M., SIMÃO, A. F., DUTRA, O. P., COELHO, O. R., IZAR, M. C.O., et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v.113, n.4, p.787-891, 2019.

QI, L., KHANG, K., ZHANG, C., DAM, R. M. V., KRAFT, P., HUNTER, D., et al. Fat Mass – and Obesity-Associated (*FTO*) Gene Variant Is Associated with Obesity. Longitudinal Analyses in Two Cohort Studies and Functional Test. **Diabetes**, v.57, 2008.

RANKINEN, T., ZUBERI, A., CHANGON, Y.C., WEISNAGEL, S.J., ARGYROPOULOS, G., WALTZ, B., et al. The human obesity gene map: the 2005 update. **Obesity**, v.14, p.529–644, 2006.

REILLY, J. J., KELLY, J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. **International journal of obesity**, v.35, p.891–898, 2011.

RUSSELL, M. A., MORGAN, N. G. Conditional expression of the *FTO* gene product in rat INS-1 cells reveals its rapid turnover and a role in the profile of glucose-induced insulin secretion. **Clinical Science**, v.120, p. 403–413, 2011.

SIKHAYEVA, N., ISKAKOVA, A., SAIGI-MORGUI, N., ZHOLDYBAEVA, E., EAP, C. B., RAMANCULOV, E. Association between 28 single nucleotide polymorphisms and type 2 diabetes mellitus in the Kazakh population: a case-control study. **BMC Medical Genetics**, v.18, n.76, 2017.

SKINNER, A. C., MAYER, M. L., FLOWER, K., WEINBERGER, M. Health status and health care expenditures in a nationally representative sample: how do overweight and healthy-weight children compare? **Pediatrics**, v.121, n.2, p.e269-e277, 2008.

SOVIO, U., MOOK-KANAMORI, D. O., WARRINGTON, N. M., LAWRENCE, R., BRIOLLAIS, L., PALMER, C. N. A., et al. Association between Common Variation at the *FTO* Locus and Changes in Body Mass Index from Infancy to Late Childhood: The Complex Nature of Genetic Association through Growth and Development. **PLoS One**, 2011.

STEEMBURGO, T., AZEVEDO, M.J., MARTÍNEZ, J.A. Interação entre gene e nutriente e sua associação à obesidade e ao diabetes melito. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.53, n.5, p.497-508, 2009.

SUHETT, L. G., HERMSDORFF, H. H. M. COTA, B. C., RIBEIRO, S. A. V., SHIVAPPA, N., HÉBERT, J. R., FRANCESCHINI, S. C. C., NOVAES, J. F. Dietary inflammatory potential, cardiometabolic risk and inflammation in children and adolescents: a systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 10, p. 1-10, 2020.

TIROSH, A., SHAI, I., AFEK, A., DUBNOV-RAZ, G., AYALON, N., GORDON, B., et al. Adolescent BMI trajectory and risk of diabetes versus coronary disease. **The New England journal of medicine**, v.364, p.1315–1325, 2011.

WEIHE, P., WEIHRAUCH-BLÜHER, S. Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Diagnostic Criteria, Therapeutic Options and Perspectives. **Current Obesity Reports**, v.8, n.4, p.472-479, 2019.

WU, Y.Y., LYE, S., BRIOLLAIS, L. The role of early life growth development, the *FTO* gene and exclusive breastfeeding on child BMI trajectories. **International Journal Epidemiology**, v.46, n.5, p.1512-1522, 2017.

XI, B., ZHANG, M., WANG, C., SHEN, Y., ZHAO, X., WANG, X., et al. The common SNP (rs9939609) in the *FTO* gene modifies the association between obesity and high blood pressure in Chinese children. **Molecular Biology Reports**, v.40, p.773–778, 2013.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Risco cardiometabólico na infância

As doenças cardiovasculares foram responsáveis pela morte de 17,6 milhões de pessoas em todo o mundo no ano de 2016, tornando-se a principal causa de mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (GBD, 2017). Em crianças, esse cenário se torna ainda mais preocupante visto que a obesidade, hipertensão arterial, hiperglicemia e dislipidemia nas fases iniciais da vida foram consideradas preditoras das doenças cardiometabólicas em adultos (BAKER et al., 2007; REILLY et al., 2011; TIROSH et al., 2011).

A presença concomitante de distúrbios cardiometabólicos, tais como a resistência insulínica, excesso de peso, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão arterial está associada ao risco aumentado para as doenças cardiovasculares (PRÉCOMA et al., 2019), e pode ser influenciada por fatores genéticos ou ambientais (SAKLAYEN, 2018). Estudo de revisão encontrou uma prevalência de 6 a 39% de síndrome metabólica entre crianças e adolescentes, sendo esta caracterizada pela presença de três ou mais alterações cardiometabólicas. No entanto, apesar da dificuldade em se estabelecer um critério para o diagnóstico, destaca-se a importância de se considerar a idade e o sexo na avaliação das distúrbios metabólicos no público pediátrico (WEIHE et al., 2019).

Entre os componentes do risco cardiometabólico tem-se a obesidade (SKINNER et al., 2008). O excesso de gordura visceral está associado à ocorrência de hipertensão, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares (LOBSTEIN et al., 2015; ABE et al., 2016; BARROSO et al., 2017) e processo inflamatório (ANDRADE et al., 2017). Além disso, pode ser associado com a disfunção na sinalização de hormônios responsáveis pela saciedade e fome, como a leptina (MOTA et al., 2007) e o balanço energético positivo (PAYAB et al., 2015). Ainda, na obesidade abdominal tem-se uma maior atividade lipolítica da célula, ocorrendo maior liberação de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, e por consequência, aumento do risco aterosclerótico (AHRENS et al., 2014).

A resistência insulínica também foi associada à ocorrência de alterações cardiometabólicas na infância (BRITO et al., 2020). No entanto, em seu estudo de revisão, Weihe et al. (2019) sugeriram cautela ao avaliar as concentrações de insulina

em indivíduos mais novos. Estudo identificou valores aumentados de insulina e HOMA-IR em adolescentes de 13 a 16 anos, quando comparado às crianças de 9 anos. Esse resultado seria atribuído à diminuição da sensibilidade à insulina que ocorre durante a puberdade (ALLARD et al., 2003).

A dislipidemia é caracterizada pelo quadro clínico de alteração na concentração de lipídios ou lipoproteínas no sangue e pode ser determinada por fatores ambientais e genéticos (FALUDI et al., 2017). Essas alterações provocam agressões no endotélio vascular, que por sua vez leva à formação de placas ateroscleróticas e o desenvolvimento da aterosclerose, uma doença inflamatória crônica que acomete a camada íntima das artérias de médio e grande calibre (FALUDI et al., 2017). Estudo de revisão identificou que a dislipidemia na infância está diretamente associada à ocorrência de doenças cardiovasculares na vida adulta e a atuação preventiva no início da vida reduziria a mortalidade em adultos por doenças cardíacas (PIRES et al., 2016).

A hipertensão arterial em crianças foi associada a maiores valores de hemoglobina glicada e índice de massa corporal (IMC) elevado (NAMBAM et al., 2016). Sugere-se que essa comorbidade seja subestimada e subdiagnosticada na infância, devido a flutuações na aferição da pressão arterial e medições erradas. Ressalta-se ainda, a ausência de pontos de corte para determinação dos níveis pressóricos elevados no grupo pediátrico, o que dificulta o diagnóstico da patologia (NAMBAM et al., 2016; FLYNN et al., 2017).

Sabe-se que as doenças cardiometabólicas apresentam uma grande herdabilidade genética (30 a 60%) e são causadas pela combinação de fatores genéticos e ambientais (VAN RIJIN et al., 2007; ALMGREN et al., 2011; WILLYARD et al., 2014). A interação do genótipo do indivíduo com estresse, atividade física, alimentação e estilo de vida podem influenciar na progressão de diversas patologias (VAN NIEL et al., 2014; LOPIZZO et al., 2015). Por isso, diante do aumento da prevalência das doenças cardiometabólicas e das consequências que esses agravos acarretam à saúde, faz-se necessário o diagnóstico nutricional logo na infância. A identificação dos fatores de risco no público pediátrico possibilita o desenvolvimento de estratégias precoces e efetivas para a prevenção de alterações metabólicas ao longo da vida (SOUZA et al., 2009).

## **2.2 Perfil inflamatório da alimentação e risco cardiometabólico**

A alimentação se caracteriza como um fator de risco modificável para a ocorrência das DCNT (BRASIL, 2011) e tem passado por alterações ao longo dos anos (LOUZADA et al., 2015). Devido às mudanças no estilo de vida da população, que cada vez mais buscam refeições que sejam práticas e rápidas, observou-se um aumento no consumo de alimentos ultraprocessados, e por consequência, uma dieta com perfil pró-inflamatório (NEUSTADT, 2006). Esta é composta por alimentos e nutrientes que estimulam a liberação de citocinas pró-inflamatórias e representa um fator de risco para o desenvolvimento das DCNT (BRESSAN et al., 2009).

A inflamação subclínica desempenha um papel fundamental na aterogênese precoce (WILLEIT et al., 2016), promovendo o aparecimento de lesões vasculares, e por consequência a ocorrência das DCV (LIBBY et al., 2012). Minihane et al. (2015) evidenciaram que a alimentação regulou o processo inflamatório em adultos, sugerindo, portanto, o efeito modulador da dieta no risco aterogênico. Estudo de revisão realizado com crianças e adolescentes identificou associação positiva entre uma dieta pró-inflamatória e marcadores cardiometabólicos, tais como adiposidade (avaliados pelo IMC, perímetros da cintura e quadril, relação cintura-estatura e tecido adiposo) e inflamatórios (interleucinas 1, 2 e 6, fator de necrose tumoral alfa, interferon gama e molécula de adesão celular vascular solúvel -1) (SILVEIRA et al., 2018). Outros estudos que avaliaram o perfil inflamatório da dieta infantil encontraram associação entre o consumo de uma dieta pró-inflamatória e maiores valores de gordura corporal, IMC, perímetro da cintura (SEN et al., 2018; ASLANI et al., 2019), relação cintura-estatura (CORREA-RODRÍGUEZ et al., 2018) e risco de obesidade em crianças de cinco e nove anos (NAVARRO et al., 2019). Em crianças brasileiras, observou-se associação direta e inversa da dieta pró-inflamatória com as concentrações de adipocinas pró e anti-inflamatórias, respectivamente. Entretanto, nenhuma associação foi encontrada entre este tipo de dieta e a adiposidade das crianças, estimada pelo DEXA (SUHETT et al., 2021).

O Índice Inflamatório da Dieta (IID) tem como finalidade, avaliar o potencial inflamatório da dieta baseado nas propriedades anti e pró-inflamatória de alguns alimentos e nutrientes específicos (CAVICCHIA et al., 2009). Em 2014, Shivappa et al. (2014) realizaram uma modificação e nova validação do IID. Nesta nova versão foi criado um escore do efeito inflamatório global de parâmetros alimentares específicos, baseado em dados de inquéritos dietéticos de 11 países. Buscou-se identificar os parâmetros alimentares que estão associados aos seguintes biomarcadores inflamatórios:

IL-1  $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF e PCR. Cada parâmetro alimentar recebeu uma pontuação variando de +1 (pró-inflamatório) a -1 (anti-inflamatório), sendo que o 0 significava que o parâmetro era neutro (CAVICCHIA et al., 2009). Com o mesmo objetivo do IID, em 2018, foi criado e validado o Índice Inflamatório da Dieta Infantil (IID-I), sendo utilizado no público pediátrico (KHAN et al., 2018).

Estudos têm demonstrado associação entre maiores valores do IID (dieta pró-inflamatória) e aumento de mediadores pró-inflamatórios como a PCR (SHIVAPPA et al., 2014b) e IL-6 (SHIVAPPA et al., 2015) em adultos. Além disso, tem sido relacionado ao maior risco do desenvolvimento de doenças como câncer colorretal (ZAMORA-ROS et al., 2015) e de próstata (SHIVAPPA et al., 2014a), e doenças cardiovasculares (GARCIA-ARELLANO et al., 2015; RAMALLAL et al., 2015). No público infantil, o IID-I indicou que uma dieta pró-inflamatória esteve associada ao maior risco do desenvolvimento precoce de alterações cardiometabólicas, como o aumento da gordura corporal, IMC e perímetro da cintura (SEN et al., 2018) e inflamatórias, tais como menores valores de adiponectina e RBP4 e maiores níveis de quemerina e leptina (BARRAGÁN-VAZQUEZ et al., 2020; SUHETT et al., 2021). Metanálises realizadas recentemente identificaram uma associação independente entre a dieta pró-inflamatória e o risco aumentado de mortalidade por doenças cardiovasculares na população em geral (SHIVAPPA et al., 2018; ZHONG et al., 2017).

Na obesidade, as concentrações dos biomarcadores inflamatórios, tais como a PCR, TNF, IL-6 e IL-8, estão aumentadas. Existem evidências de que a dieta desempenha importante papel na regulação da inflamação crônica. Estudos têm demonstrado que o maior consumo de frutas, hortaliças, óleos vegetais, cereais integrais, lácteos desnatados e consumo moderado de álcool estão associados à menor liberação de mediadores pró-inflamatórios (ESTRUCH, 2010; URPI-SARDA et al., 2012). Em contrapartida, o maior consumo de carnes vermelhas e processadas, produtos lácteos integrais, cereais refinados e refrigerante foram associados a maior concentração sanguínea de marcadores pró-inflamatórios (LOPEZ-GARCIA et al., 2004; NEUSTADT, 2006). Estudos realizados com adultos brasileiros identificaram associação entre a dieta pró-inflamatória e maior prevalência de sobrepeso e obesidade (MENEGUELLI, et al., 2019; OLIVEIRA, et al., 2020). Em estudantes iranianos, com idades entre 6 e 18 anos, a dieta pró-inflamatória também foi associada ao aumento do IMC e perímetros da cintura e do punho (ASLANI et al., 2018). Nesse sentido, a

alimentação se apresenta como uma estratégia oportuna tanto para a prevenção quanto para o tratamento do processo inflamatório.

Estudos mostram a interação entre fatores genéticos, dietéticos e ambientais no desenvolvimento da inflamação e por consequência, na patogênese da obesidade e doenças cardiovasculares (KREUTZER et al., 2017; YARIZADEH et al., 2020). Em adultos, foi relatado a interação entre o IID e o polimorfismo rs17782313 do gene *MC4R* no colesterol total, massa livre de gordura e taxa metabólica basal (YARIZADEH et al., 2020). No entanto, não há estudos que avaliaram a associação do IID-I com marcadores genéticos no público pediátrico. Diante disso, faz-se necessário investigar o genótipo do indivíduo e a sua relação com o perfil inflamatório da dieta e o risco cardiometabólico em fases iniciais da vida.

### **2.3 Genômica Nutricional**

A genômica nutricional tem sido apontada como uma ferramenta útil para aumentar os conhecimentos sobre as interações entre dieta e expressão gênica. Além disso, a partir destes estudos tem-se um melhor entendimento do binômio saúde-doença (HERMSDORFF et al., 2018). Os fatores de risco modificáveis apresentam grande influência na ocorrência da obesidade, no entanto, a herdabilidade genética é responsável por 40 a 70% dos casos de obesidade (ALLISON et al., 1996). Estudo identificou que o IMC de crianças adotadas se correlacionou com o IMC do pai biológico e/ou do irmão, mas não com o do pai adotivo (STUNKARD et al., 1986). No entanto, apesar de já se ter identificado diversos genes, os estudos atuais explicam apenas uma pequena fração da variação genética da população (STITZIEL, 2017).

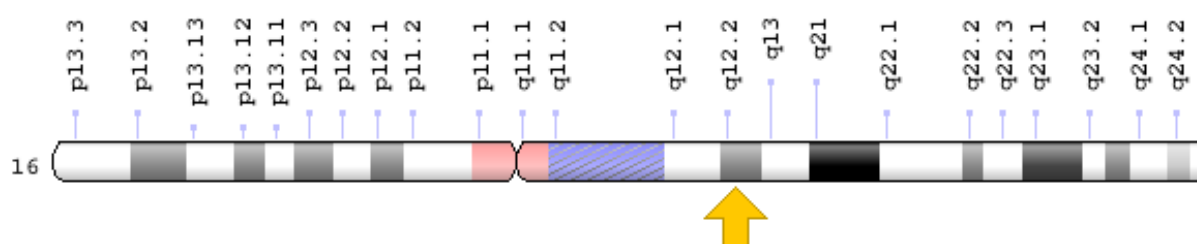
Nos genes pode-se ter a ocorrência de polimorfismos. Estes são definidos como variações genéticas que estão presentes na população numa frequência maior que 1%. Quando estas variações estão presentes numa frequência menor que 1% são chamadas de mutação (SCHAFER et al., 1998).

Os polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNP) são variações na sequência do DNA em que um único nucleotídeo (A, T, C ou G) do genoma é alterado. Estes polimorfismos constituem 90% das variações encontradas no genoma humano, ocorrendo a cada 1.000 pares de bases e sendo responsável pelo desenvolvimento de diversas patologias (MARQUI, 2015). Recentemente uma metanálise identificou a existência de 738 SNP's associados ao perímetro da cintura,

gordura corporal e tecido adiposo visceral (DONG et al., 2018). SNP's em genes como o *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* têm sido associados ao aumento do risco cardiometabólico em adultos (HOTTA et al., 2011; PETTERMON et al., 2018; SABARNEH et al., 2018) e crianças (DUICU et al., 2016; KNOW et al., 2017).

### 2.3.1 Fat mass and Obesity Associated (*FTO*)

O gene *FTO*, localizado no cromossomo 16, região 16q12.2, é responsável pela codificação da desmetilase 2-oxoglutarato-dependente, também chamada de proteína FTO (WANG et al., 2015).



**Figura 1.** Localização do gene *FTO*.

Fonte: Genome Decoration Page

Endereço eletrônico: < <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/FTO#location> > Acesso em: 26 de março de 2019.

Este gene foi identificado pela primeira vez em 2007, em um estudo que buscava avaliar a relação entre polimorfismos no gene *FTO* e a ocorrência de diabetes mellitus tipo 2 (FRAYLING et al., 2007). A variante do polimorfismo rs9939609 foi uma das primeiras identificadas e associadas ao excesso de peso (CAUCHI et al., 2009; ZHANG et al., 2010). Desde a sua descoberta, o SNP rs9939609 tem sido o mais estudado, devido à sua associação com diversas alterações cardiometabólicas, em diferentes populações e faixas etárias (CURT et al., 2013; DUICU et al., 2016; MIZUNO et al., 2018).

Localizado no primeiro íntron, o SNP rs9939609 caracteriza-se pela troca da base timina (T) pela adenina (A). Os três genótipos possíveis do indivíduo seria TT, AT e AA, sendo o último o genótipo com polimorfismo (LOOS et al., 2008). No público pediátrico a frequência de ocorrência desse polimorfismo variou de 9,5% (PETTERMON et al., 2018) a cerca de 20,0% (OLZA et al., 2013; ULLOA et al.,

2020), prevalência próxima ao observado em estudo realizado com crianças brasileiras (SILVA et al., 2013).

Diante disso, o polimorfismo selecionado para o estudo foi escolhido devido à sua associação em estudos anteriores com o risco cardiometabólico e o consumo alimentar (CURT et al., 2013; DUICU et al., 2016; CASTELINNI et al., 2017; MARTINS et al., 2018; MIZUNO et al., 2018) e a frequência de alelos do polimorfismo nas populações (OLZA et al., 2013; ULLOA et al., 2020).

#### **- *FTO* e o risco cardiometabólico**

O primeiro estudo com o gene *FTO* avaliou a associação do polimorfismo desse gene com a ocorrência do diabetes mellitus tipo 2. Os autores verificaram a existência dessa associação, no entanto, quando realizado o ajuste pelo IMC dos indivíduos, a associação perdeu a significância estatística (FRAYLING et al., 2007). A partir daí começaram-se as pesquisas avaliando a presença do polimorfismo no gene *FTO* com a adiposidade corporal.

Já tem sido demonstrada a associação entre a presença do genótipo de risco e o desenvolvimento da obesidade. Indivíduos com o genótipo AA pesaram em média três quilos a mais e tiveram 1,7 vezes mais chance de ser obesos do que os indivíduos que eram homozigotos para o alelo de menor risco (TT) (FRAYLING et al., 2007). Estudos identificaram ainda que a presença de um único alelo foi capaz de aumentar a probabilidade do excesso de peso, ou seja, indivíduos heterozigotos também apresentaram o risco de desenvolvimento da doença (FREATHY et al., 2008; PETTERMON et al., 2018).

Entre o público infantil essa associação se mantém. Estudos realizados com crianças e adolescentes identificaram aumento do peso corporal, IMC, perímetros da cintura e quadril à medida que se era adicionado um alelo de risco (CECIL et al., 2008; DUICU et al., 2016). No entanto, uma metanálise identificou que o polimorfismo se expressa de diferentes maneiras no indivíduo, a depender da sua idade. A mesma variante associada à obesidade no adulto foi associada ao menor IMC entre as crianças menores de dois anos (SOVIO et al., 2011). Estudos sugerem que a maior expressão do gene seria na faixa etária de 4 a 11 anos, depois teria um pico próximo aos 29 anos e enfraqueceria ao longo da vida adulta (FRAYLING et al., 2007; HAWORTH et al., 2008; JESS et al., 2008).

Estudo que avaliou o efeito de dois polimorfismos do gene *FTO* no peso ao nascer identificou que os indivíduos portadores do alelo de risco tiveram menor peso ao nascer, quando comparado aos indivíduos sem o alelo de risco. Tal efeito perdeu a significância estatística a partir dos três meses de vida (DECAMPS et al., 2014). Atribui-se esse resultado à programação fetal. Esta corresponde aos estímulos e exposições que o feto e as crianças em fases iniciais da vida são expostos. Tais episódios podem desencadear adaptações que vão promover mudanças fisiológicas no organismo. Quando o ambiente intrauterino é desfavorável para o crescimento adequado, o feto pode apresentar retardo do crescimento intrauterino e maior chance de desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (HERMSDORFF et al., 2018). Sendo assim, neste caso, o polimorfismo estar associado ao menor peso ao nascer não necessariamente seria benéfico, mas sim, sugere-se que predispõe o feto à programação fetal.

Essa associação do gene *FTO* com a obesidade se daria devido ao seu papel na modulação da lipólise das células adiposas (WAHLEN et al., 2008) e regulação dos fatores de transcrição envolvidos na adipogênese, contribuindo para a manutenção e formação do tecido adiposo (WU et al., 2017). Além disso, o *FTO* é responsável pelo controle da ingestão alimentar e alteração das preferências alimentares (BRUNKWALL et al., 2013). Todos esses mecanismos contribuiriam então para o ganho de peso.

Entretanto, apesar de os indivíduos portadores do alelo de risco apresentarem predisposição à obesidade, uma metanálise identificou que a prática de atividade física atenuou o risco de obesidade entre os indivíduos adultos portadores do alelo de risco. No grupo ativo, o alelo A aumentou o risco de obesidade em 1,22 vezes, enquanto que no grupo inativo o aumento foi de 1,30 vezes. Houve, portanto, uma atenuação no risco de obesidade de 27% (KIPELAINEN et al., 2011). Esse resultado reforça a ideia de que a ocorrência do excesso de peso se dá pela interação entre os fatores genéticos e ambientais, incluindo ainda, que mesmo que o indivíduo apresente a predisposição genética para o excesso de peso, com um estilo de vida saudável, tal risco seria atenuado.

Apesar da maioria dos estudos com o gene *FTO* serem relacionados à obesidade, sabe-se que este gene também regula o metabolismo da glicose. Indivíduos com o polimorfismo apresentaram maior glicemia de jejum e produção hepática de glicose (FRAYLING et al., 2007; DINA et al., 2007; GRUNETT et al., 2009). Ressalta-se ainda que, a relação entre este gene e o diabetes mellitus tipo 2 pode ser mediada pela

obesidade, uma vez que o *FTO* é expresso no tecido adiposo (GERKEN et al., 2007; GAO et al., 2010) e este além de armazenar gordura, apresenta função hormonal. O seu excesso, principalmente na região visceral está associado à hiperglicemia (HALABIS et al., 2015), portanto, o aumento da expressão do *FTO*, devido ao polimorfismo contribui para aumento da adiposidade e secreção de insulina (RUSSELL et al., 2011).

Em crianças, o gene *FTO* foi associado à ocorrência de hipertensão arterial (XI et al., 2013). O *FTO* é altamente expresso no hipotálamo, local responsável por regular a pressão arterial (GUYENET, 2006). Além disso, este gene contribuiu no aumento do tônus do vaso motor simpático, um mecanismo que eleva os níveis pressóricos (PAUSOVA et al., 2009). Portanto, o polimorfismo no gene *FTO* pode contribuir para a ocorrência de hipertensão arterial.

O gene *FTO* foi associado ainda à ocorrência de dislipidemia (CHURCH et al., 2009; HOTTA et al., 2011), indicando que o *FTO* também atua no metabolismo lipídico (SIKHAYEVA et al., 2017). Apesar dos mecanismos de atuação do gene no perfil lipídico ainda serem desconhecidos, acredita-se que assim como para a adiposidade, esse resultado seja atribuído às alterações nas preferências alimentares (MARTINS et al., 2018).

#### **- *FTO* e consumo alimentar**

O gene *FTO* é altamente expresso no hipotálamo, sugerindo uma atuação desse gene no controle da ingestão alimentar (OLSZEWSKI et al., 2009; LLEWELLYN et al., 2012), preferências alimentares (CECIL et al., 2008; BRUNKWALL et al., 2013) e regulação do apetite (DEN HOED et al., 2009; DOUGKAS et al., 2013). Sabe-se que o gene *FTO* codifica a enzima desmetilase de ácido nucleico dependente de 2-oxoglutarato. Esta enzima é expressa no hipotálamo e em outras áreas do cérebro, responsáveis pelo controle do apetite e comportamento alimentar (OLSZEWSKI et al., 2009; LLEWELLYN et al., 2012).

Ainda relacionado ao papel do gene *FTO* no controle da saciedade, estudo realizado com indivíduos italianos, identificou que a presença do alelo de risco A esteve associado a um aumento da vulnerabilidade à transtornos alimentares quando comparado ao grupo controle (72,8% vs. 52,9%,  $p < 0,001$ ). Além disso, a presença do alelo foi associada à compulsão alimentar (CASTELINNI et al., 2017).

Estudo realizado na Suécia identificou associação entre o alelo A e a preferência por alimentos altamente energéticos, como biscoitos e doces, quando comparados aos homozigotos TT (BRUNKWALL et al., 2013). Além disso, no único estudo que avaliou a associação entre o SNP rs9939609 e o consumo de ultraprocessados, foi observado que gestantes que apresentavam o alelo A tiveram menor ingestão de proteínas e maior de carboidratos e alimentos ultraprocessados. Os autores explicaram que esse resultado é plausível, uma vez que os alimentos proteicos são responsáveis pela saciedade e no caso, os indivíduos com o alelo de risco, apresentaram menor consumo desses alimentos. Os autores sugeriram ainda, que a dieta poderia mediar o efeito do *FTO* na obesidade (MARTINS et al., 2018).

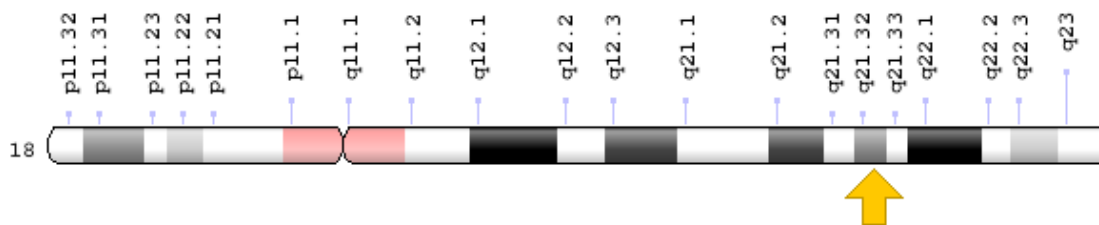
Apesar de não terem sido encontrados estudos que avaliaram a associação do perfil inflamatório da dieta com a presença de polimorfismos no gene *FTO*, alguns trabalhos evidenciaram a relação do polimorfismo com alteração de marcadores inflamatórios tanto em adultos (FISHER et al., 2009; TIMPSON et al., 2011) quanto em crianças (OLZA et al., 2013). Acredita-se que possa haver uma associação entres estes componentes, uma vez que a presença do polimorfismo no gene *FTO* foi associado à maior ingestão energética total (RANZENHOFER et al., 2019), maior consumo de produtos ultraprocessados, carboidratos (MARTINS et al., 2018) e gordura (STEEMBURGO et al., 2013; CROVESY et al., 2019; DAYA et al., 2019). Sabe-se que todos esses alimentos e nutrientes compõem uma dieta pró-inflamatória (NEUSTADT, 2006; VERONESE et al., 2018), justificando então essa relação.

### **2.3.2 Receptores de Melanocortinas Tipos 4 (*MC4R*)**

O *MC4R* é uma proteína composta por 332 aminoácidos, codificada pelo gene *MC4R*. Este pertence à família dos receptores de melanocortinas (*MC1R* a *MC5R*), que estão amplamente distribuídos em tecidos periféricos e no sistema nervoso central. Localizado no cromossomo 18, região 18q22, o *MC4R* está relacionado ao controle do peso corporal, modulando o gasto energético e a ingestão alimentar (RODRIGUES et al., 2003).

O polimorfismo mais comum no gene *MC4R* é o rs17782313, tendo sido explorado em outros trabalhos com o público pediátrico (FERNANDES et al., 2015; LAURIA et al., 2016; OBREGON et al., 2017; SONG et al., 2017). Este se caracteriza pela troca da base timina (T) pela citosina (C) sendo assim, os três genótipos possíveis

do indivíduo seria TT, TC e CC, sendo o último o genótipo com o polimorfismo (RODRIGUES et al., 2003). Em crianças, a frequência de ocorrência desse polimorfismo variou de 0,8% (OBREGON et al., 2017) a 6,2% (SONG et al., 2017).



**Figura 2.** Localização do gene *MC4R*.

Fonte: Genomic Decoration Page

Endereço eletrônico: < <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MC4R#location>>. Acesso em 26 de março de 2019.

Nesse contexto, o polimorfismo rs17782313 foi escolhido devido à sua associação em estudos anteriores com o risco cardiometabólico e o consumo alimentar (LAURIA et al., 2016; KNOW et al., 2017) e a frequência de alelos do polimorfismo nas populações (OBREGON et al., 2017; SONG et al., 2017).

### - *MC4R* e o risco cardiometabólico

Em 1998, surgiram as primeiras evidências relatando a associação entre as mutações do gene *MC4R* e a obesidade. Tais mutações, com prevalência de 1,7 a 3,0% entre os indivíduos obesos é a causa mais comum da obesidade monogênica. A variante alélica deste gene que teria maior associação com o aumento do IMC e risco para obesidade seria o rs17782313 (VAISSE et al., 1998).

Uma metanálise identificou que o polimorfismo rs17782313 esteve associado ao maior risco para obesidade, independente da etnia e faixa etária (XI et al., 2012). No público infantil essa associação se manteve. Pesquisa realizada com crianças encontrou que a presença do polimorfismo no gene *MC4R* se associou a maiores valores de IMC, perímetro da cintura e dobras cutâneas (LAURIA et al., 2016). Ainda, crianças que apresentaram o polimorfismo tiveram maior perda de peso após um mês de intervenção nutricional, no entanto, tiveram dificuldade em manter a perda de peso em relação às crianças sem o alelo de risco (REINEHR et al., 2009).

Estudo de revisão encontrou que o padrão alimentar dos indivíduos parece modular a associação entre o polimorfismo do gene *MC4R* e o risco de obesidade (KOOCHAKPOOR et al., 2016). Ao verificar a relação entre o número de refeições realizadas ao dia, a presença do SNP rs17782313 e a ocorrência de obesidade, foi observado que entre as crianças que apresentavam o alelo de risco, aquelas que realizavam menos que quatro refeições ao dia apresentaram valores significativamente maiores de IMC (22,72 Kg/m<sup>2</sup>), quando comparado às que realizavam mais que cinco refeições (20,3 Kg/m<sup>2</sup>) (JÄÄSKELÄINEN et al., 2013).

No entanto, assim como para o gene *FTO*, estudo realizado com crianças e adolescentes com idades entre 7 e 18 anos encontrou que a prática de atividade física atenuou o risco de obesidade. A presença do polimorfismo foi associada ao maior risco de obesidade (OR=1,21, IC95%: 1,03-1,44), no entanto, após ajuste pelo comportamento sedentário, a associação se manteve apenas entre as crianças que praticavam menos que uma hora de atividade física por dia (SONG et al., 2017).

Em relação aos demais parâmetros do risco cardiometabólico, os resultados ainda são conflitantes, a depender da idade do indivíduo. Estudo com adultos identificou a associação entre o gene *MC4R* e o risco aumentado de resistência insulínica (CHAMBERS et al., 2008). Em mulheres, o polimorfismo rs177823131 foi associado ao aumento do risco de diabetes mellitus tipo 2, mesmo após ajuste pelo IMC e perímetro da cintura (Qi et al., 2008). Essa relação seria mediada por fatores dietéticos (KOOCHAKPOOR et al., 2016), uma vez que indivíduos portadores do polimorfismo apresentam maior preferência por alimentos gordurosos (QI et al., 2008) e ultraprocessados (MARTINS et al., 2018). No entanto, Fernandes et al. (2015) não evidenciaram diferença estatisticamente significativa entre a presença do polimorfismo em crianças e alterações na glicemia de jejum, insulina de jejum e no HOMA-IR.

No público pediátrico, o gene *MC4R* foi associado a hipertrigliceridemia (FERNANDES et al., 2015) e menores valores de adiponectina (WU et al., 2017). Os mecanismos ainda não são conhecidos e os estudos escassos, no entanto, sugere-se também uma relação entre o *MC4R* e a ocorrência de dislipidemia e inflamação.

#### **- *MC4R* e consumo alimentar**

Existem evidências que mostram a influência do SNP rs17782313 na ingestão calórica e comportamento alimentar. Estudo envolvendo a participação de 5.724

mulheres, observou que aquelas que apresentavam o alelo de risco (C) para o polimorfismo tiveram maior ingestão calórica e de gorduras (QI et al., 2008). Além disso, polimorfismos do *MC4R* foram associados à menor resposta à saciedade em adultos e crianças, aumento do consumo de alimentos fora das refeições e hiperfagia em crianças obesas (QI et al., 2008; STUTZMANN et al., 2009; VALLADARES et al., 2010).

Ainda, Lv et al. (2015) avaliaram o consumo de sal por crianças que apresentavam o SNP rs17782313, encontrando que, aquelas que apresentavam maior ingestão do alimento tiveram maior risco de obesidade, quando comparado às que consumiam menos sal. Sendo assim, sugere-se que o consumo de alimentos altamente salgados exacerba o efeito da variante do *MC4R* sobre a obesidade. Como os ultraprocessados apresentam alto teor de sal em sua composição, sugere-se ainda, que o consumo deste grupo alimentar exerça efeito sobre o *MC4R* e influencie no ganho de peso corporal. Martins et al. (2018) identificaram que a presença do alelo de risco para o polimorfismo do gene *MC4R* esteve associado ao aumento da ingestão energética proveniente de ultraprocessados. Por outro lado, outro estudo não encontrou associação entre o polimorfismo do gene *MC4R* e a ingestão de macronutrientes por indivíduos obesos (KOOCHAKPOOR et al., 2016).

O comportamento alimentar é regulado pelo hipotálamo, onde o quanto se come é uma resposta ao estado energético interno. Conexões complexas são estabelecidas entre os núcleos hipotalâmicos a fim de se estabelecer a homeostase energética por meio da regulação entre a ingestão de alimentos e o gasto energético (MILLIGTON et al., 2007). A deficiência do *MC4R* demonstrou estar associada aos níveis elevados de insulina e ao crescimento linear acelerado na infância (KNOW et al., 2017) e ainda polimorfismos nos genes do sistema de melanocortinas do sistema nervoso central (*MC4R* e *MC3R*) apresentaram como resultado o fenótipo da obesidade (KNOW et al., 2017).

Foi encontrado na literatura um estudo que avaliou a interação entre o gene *MC4R* e o índice inflamatório da dieta no risco cardiometabólico em adultos. Maiores escores do IID foram associados a menores valores de HDL-c e maiores níveis de triglicerídeos, sendo observado diferenças significativas de acordo com o genótipo do indivíduo (YARIZADEH et al., 2021). Não foram encontrados na literatura estudos que avaliaram a associação entre os polimorfismos do gene *MC4R* e o perfil inflamatório da dieta infantil.

### 2.3.3 Proteína relacionada a Miotubularina – 9 (*MTMR9*)

O gene *MTMR9* é localizado na região 8p23.1 e faz parte da família das miotubularinas (*MTMR1-MTMR13*). Estudos tem demonstrado a associação entre polimorfismos nesse gene e o risco cardiometabólico (YANAGIYA et al., 2007; HOTTA et al., 2011; TANG et al., 2014).

Na literatura são encontrados cinco artigos publicados, que trabalharam com o gene *MTMR9*. Destes, três pesquisaram o SNP rs2293855 e avaliaram o risco cardiometabólico (YANAGIYA et al., 2007; HOTTA et al., 2011; TANG et al., 2014). Este polimorfismo se caracteriza pela troca da base guanina (G) pela adenina (A). Os três genótipos possíveis do indivíduo seria GG, AG e AA, sendo o último o genótipo de risco para a obesidade (HOTA et al., 2011). Não se tem publicado trabalhos que avaliaram o polimorfismo no gene *MTMR9* em crianças.

O gene *MTMR9* é responsável por codificar a proteína MTMR9, que controla a regulação da atividade da *MTMR6* e *MTMR7*, e atuam em conjunto no controle da proliferação (HNIA et al., 2012) e apoptose celular (ZOU et al., 2009). Além disso, estudo em modelo animal, sugeriu que a expressão do *MTMR9* acontece no cérebro e hipotálamo, sendo a última regulada pela alimentação (YANAGIYA et al., 2007).

Ainda são escassos os estudos que avaliaram polimorfismos no gene *MTMR9* e as suas funções são pouco conhecidas. No entanto, alguns trabalhos encontraram a relação entre o polimorfismo deste gene com valores aumentados de IMC, gordura corporal (JOHNSON et al., 2005; RANKINEN et al., 2005; TANABE et al., 2007) e a ocorrência da síndrome metabólica (HOTTA et al., 2011).

Sugere-se que a associação do polimorfismo do *MTMR9* com a ocorrência da obesidade aconteça devido à sua função no controle do apetite. A proteína MTMR9 foi encontrada na área hipotalâmica de roedores, juntamente com a presença do neurotransmissor orexina, hormônio concentrador de melanina, neuropeptídeo Y e proopiomelanocortina, todos envolvidos no controle da ingestão de alimentos, peso corporal e homeostase energética. Os autores sugeriram ainda que o *MTMR9* seria um possível candidato para o desenvolvimento de novos medicamentos para ajudar na prevenção e tratamento da obesidade (YANAGIYA et al., 2007).

Diante do exposto, percebe-se a existência de lacunas na literatura, relacionados à associação entre o genótipo dos indivíduos, hábitos alimentares e risco cardiometabólico. Além disso, os estudos com o público pediátrico são escassos.

## REFERÊNCIAS

ABE, Y., OKADA, T., OKUMA, H., KAZAMA, M., YONEZAMA, R., SAITO, E. et al. Abdominal Obesity, Insulin Resistance, and Very Low-Density Lipoprotein Subclass Profile in Japanese School Children. **Childhood obesity**, v.1, n. 3, p. 1-6, 2016.

AHRENS, W., MORENO, L.A., MARILD, S., MOLNAR, D., SIANI, A., HENAUW, S.D. et al. Metabolic syndrome in young children: definitions and results of the IDEFICS study. **International Journal of Obesity**, v.38, p.4-14, 2014.

ALLARD, P., DELVIN, E. E., PARADIS, G., HANLEY, J. A., O'LOUGHLIN, J., LAVALLEE, C., et al. Distribution of fasting plasma insulin, free fatty acids, and glucose concentrations and of homeostasis model assessment of insulin resistance in a representative sample of Quebec children and adolescents. **Clinical Chemistry**, v.49, n.4, p.644–9, 2003.

ALLISON, D.B., FAITH, M.S., NATHAN, J.S. Risch's lambda values for human obesity. **International journal of obesity and related metabolic disorders**, v.20, p.990–999, 1996.

ALMGREN, P., LEHTOVIRTA, M., ISOMAA, B., SARELIN, L., TASKINEN, M. R., LYSSSENKO, V. et al. Heritability and familiality of type 2 diabetes and related quantitative traits in the Botnia Study. **Diabetologia**, v.54, p.2811–2819, 2011.

ANDRADE, C., BOSCO, A., SANDRIM, V., SILVA, F. Níveis de MMP-9 e EIMC mostram-se elevados em crianças e adolescentes obesos em comparação a não obesos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.108, n.3, p.198-203, 2017.

ASLANI, Z., QORBANI, M., HÉBERT, J. R., SHIVAPPA, N., MOTLAGH, M. E., ASAYESH, H., et al. Association of Dietary Inflammatory Index with anthropometric indices in children and adolescents: the weight disorder survey of the Childhood and Adolescence Surveillance and Prevention of Adult Non-communicable Disease (CASPIAN)-IV study. **British Journal of Nutrition**, 2018.

ASLANI, Z., QORBANI, M., HEBERT, J. R., SHIVAPPA, N., MOTLAGH, M. E., ASAYESH, H., et al. Association of dietary inflammatory index with anthropometric indices in children and adolescents: The weight disorder survey of the childhood and adolescence surveillance and prevention of adult non-communicable disease (CASPIAN)-IV study. **British Journal of Nutrition**, v.121, n.3, p.340–50, 2019

BAKER, J. L., OLSEN, L. W., SORENSEN, T. I. A. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. **The New England journal of medicine**, v.357, p.2329–37, 2007.

BARRAGÁN-VÁZQUEZ, S., ARIZA, A. C., SILVA, I. R., PEDRAZA, L. S., DOMMARCO, J. A. R., ORTIZ-PANOZO, E. et al. Pro-Inflammatory Diet Is Associated with Adiposity during Childhood and with Adipokines and Inflammatory Markers at 11 Years in Mexican Children. **Nutrients**, 2020.

BARROSO, T.A., MARINS, L. B., ALVES, R., GONÇALVES, A. C. S., BARROSO, S. G., ROCHA, G. S. Associação Entre a Obesidade Central e a Incidência de Doenças e Fatores de Risco Cardiovascular. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v.30, n.5, p.416-424, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Saúde Suplementar. Manual técnico para promoção da saúde e prevenção de riscos e doenças na saúde suplementar. Brasil. 4º ed. rev. e atual. Rio de Janeiro 2011. 244p.

BRESSAN, J., HERMSDORFF, H. H. M., ZULET, M. A., MARTÍNEZ, J. A. Hormonal and inflammatory impacto of different dietetic composition: emphasis on dietary patterns and specific dietary factors. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v.53, n.5, p.572-581, 2009.

BRITO, A. D. M., HERMSDORFF, H. H. M., FILGUEIRAS, M.S., VIEIRA, S.A., FRANCESCHINI, S. C. C., NOVAES, J. F. TAG-glucose (TyG) index in childhood: an estimate of cut-off points and the relation to cardiometabolic risk in 4- to 9-year-old children. **Public Health Nutrition**, p. 1-8, 2020.

BRUNKWALL, L., ERICSON, U., HELLSTRAND, S., GULLBERG, B., ORHOMELANDER, M., SONESTEDT E. Genetic variation in the fat mass and obesity-associated gene (FTO) in association with food preferences in healthy adults. **Food & Nutrition Research**, 2013.

CASTELLINI, G., FRANZAGO, M., BAGNOLI, S., LELLI, L., BALSAMO, M., MANCINI, M., NAMIAS, B., et al. Fat mass and obesity-associated gene (*FTO*) is associated to eating disorders susceptibility and moderates the expression of psychopathological traits. **PLoS One**, 2017.

CAUCHI, S., STUTZMANN, F., CAVALCANTI-PROENÇA, C. Combined effects of MC4R and FTO common genetic variants on obesity in European general populations. **Journal of Molecular Medicine**, v.87, n.5, p.537-546, 2009.

CAVICCHIA, P.P., STECK S. E., HURLEY, T. G., HUSSEY, J. R., MA, Y., OCKENE, I. S., et al. A new dietary Inflammatory Index Predicts Interval Changes in Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein. **The Journal of Nutrition**, v.139, n.12, p.2365- 2372, 2009.

CECIL, J.E., TAVENDALE, R., WATT, P., HETHERINGTON, M. M., PALMER C. N. A. An Obesity-Associated *FTO* Gene Variant and Increased Energy Intake in Children. **The New England Journal of Medicine**, 2008.

CHAMBERS, J.C., ELLIOTT, P., ZABANEH, D., ZHANG, W., LI, Y., FROGUEL, P., et al. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. **Nature Genetics**, v.40, p.716–718, 2008.

CHURCH, C., LEE, S., BAGG, E. A., MCTAGGART, J. S., DEACON, R., GERKEN, T., et al. A mouse model for the metabolic effects of the human fat mass and obesity associated FTO gene. **PLoS Genet**, v.5, 2009.

CORREA-RODRÍGUEZ, M., GONZÁLEZ-JIMENEZ, E., RUEDA-MEDINA, B., TOVAR-GALVEZ, M. I., RAMIREZ-VELEZ, R., CORREA-BAUTISTA, J. E. et al. Dietary inflammatory index and cardiovascular risk factors in Spanish children and adolescents. **Research in Nursing & Health**, v.41, n.5, p.448–58, 2018.

CROVESY, L., ROSADO, E. L. Interaction between genes involved in energy intake regulation and diet in obesity. **Nutrition**, p.67-68, 2019.

CURT, M. L. R., ROGERO, M. M., BALTAR, V. T., BARROS, C. R., SIQUEIRA-CATANIA, A., FERREIRA, S. R. G. FTO T/A and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g Pro12Ala Polymorphisms but Not ApoA1 -75 Are Associated with Better Response to Lifestyle Intervention in Brazilians at High Cardiometabolic Risk. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v.11, n.3, 2013.

DAYA, M., PUJANTO, D. A., WITJAKSONO, F., PRILIANI, L., SUSANTO, J., LUKITO, W., et al. Obesity risk and preference for high dietary fat intake are determined by FTO rs9939609 gene polymorphism in selected Indonesian adults. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.28, n.1, p.183-191, 2019.

DECAMPS, O.S., TARANTINO, E., GUILMONT, P.F. Does FTO have a paradoxical effect in fetal life? **BMC Genetics**, v.15, n.145, p.1-7, 2014.

DEN HOED, M., WESTERTERP-PLANTENGA, M. S., BOUWMAN, F. G., MARIMAN, E. C. M., WESTERTERP, K. R. Postprandial responses in hunger and satiety are associated with the rs9939609 single nucleotide polymorphism in FTO. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.90, p.1426–1432, 2009.

DIAS, J. A., WIRFÄLT, E., DRAKE, I., GULLBERG, B., HEDBLAD, B., PERSSON, M., et al. A high quality diet is associated with reduced systemic inflammation in middle-aged individuals. **Atherosclerosis**, v.238, p.38–44, 2015.

DINA, C., MEYRE, D., GALLINA, S., DURAND, E., KORNER, A., JACOBSON, P., et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. **Nature Genetics**, v.39, p.724–726, 2007.

DONG, S., ZHANG, Y., CHEN, Y., YAO, S., HAO, R. H., RONG, Y., et al. Comprehensive review and annotation of susceptibility SNPs associated with obesity-related traits. **Obesity Reviews**, v.19, p.917-30, 2018.

DOUGKAS, A., YAQOUB, P., GIVENS, D. I., REYNOLDS, C. K., MINIHANE, A. M. The impact of obesity-related SNP on appetite and energy intake. **British Journal of Nutrition**, v.110, p.1151–1156, 2013.

DUICU, C., MARGINEAN, C. O., VOIDAZAN, S., TRIPON, F., BANESCU, C. FTO rs 9939609 SNP Is Associated with Adiponectin and Leptin Levels and the Risk of Obesity in a Cohort of Romanian Children Population. **Medicine**, v.95, n.20, 2016.

ESTRUCH, R. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: the experience of the PREDIMED study. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.69, n.3 p.333-340, 2010.

FALUDI, A. A., IZAR, M. C., SARAIVA, J. F., CHACRA, A. P., BIANCO, H. T., AFIUNE-NETO, A., et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v.109, n.2, p1-76, 2017.

FERNANDES, A. E., MELO, M. E., FUJIWARA C. T. H., PIOLTINE, M. B., MATIOLI, S. R., SANTOS, A. et al. Associations between a common variant near the MC4R gene and serum triglyceride levels in an obese pediatric cohort. **Endocrine**, v.49, p.653–658, 2015.

FISHER, E., SCHULZE, M.B., STEFAN, N., HÄRING, H.U., DÖRING, F., JOOST, H.G., AL-HASANI, H., BOEING, H., PISCHON, T. Association of the FTO rs9939609 single nucleotide polymorphism with C-reactive protein levels. **Obesity**, v.17, p.330–334, 2009.

FLYNN, J. T., KAELEBER, D. C., BAKER-SMITH, C. M., BLOWEY, D., CARROLL, A. E., DANIELS, S. R., et al. Clinical practice guideline for screening and management of high blood pressure in children and adolescents. **Pediatrics**, v.140, n3, 2017.

FRAYLING, T.M., TIMPSON, N.J., WEEDON, M.N., ZEGGINI, E., FREATHY, R. M., LINDGREN, C. M., et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. **Science**, v.316, p.889–893, 2007.

FREATHY, R.M., TIMPSON, N.J., LAWLOR, D.A., POUTA, A., BEN-SHLOMO, Y., RUOKONEN, A., et al. Common variation in the FTO gene alters diabetes-related metabolic traits to the extent expected given its effect on BMI. **Diabetes**, v.57, p.1419-1426, 2008.

GAO, X., SHIN, Y. H., LI, M., WANG, F., TONG, Q., ZHANG, P. The fat mass and obesity associated gene FTO functions in the brain to regulate postnatal growth in mice. **PLoS One**, v.5, e14005, 2010.

GARCIA-ARELLANO, A., RAMALLAL, R., RUIZ-CANELA, M., SALAS-SALVADO, J., CORELLA, D., SHIVAPPA, N., et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the PREDIMED Study. **Nutrients**, v.7, n.6, p.4124-4138, 2015.

GBD Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980- 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet**, v.390, p.1151–210, 2017.

GERKEN, T., C. A. GIRARD, Y. C. TUNG, C. J. WEBBY, V. SAUDEK, K. S. HEWITSON, G. S., et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutaratedependent nucleic acid demethylase. **Science**, v.318, p.1469–1472, 2007.

GRUNNET, L. G., BRONS, C., JACOBSEN, S., NILSSON, E., ASTRUP, A., HANSEN, T., et al. Increased recovery rates of phosphocreatine and inorganic phosphate after isometric contraction in oxidative muscle fibers and elevated hepatic insulin resistance in homozygous carriers of the A-allele of FTO rs9939609. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.94, p.596–602, 2009.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, v.7, p.335–346, 2006.

HALABIS, M., DZIEDZIC, M., WARCHULINSKA, J., KAZNOWSKA-BYSTRYK, I., SOLSKI, J. Omentin-a new adipokine with many roles to play. **Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences**, v.28, p.176–80, 2015.

HAWORTH, C.M., CARNELL, S., MEABURN, E.L., DAVIS, O.S., PLOMIN, R., WARDLE, J. Increasing heritability of BMI and stronger associations with the FTO gene over childhood. **Obesity**, v.16, p.2663–2668, 2008.

HERMSDORFF, H.H.M. et al. (Nutri)genética e (Nutri)epigenética na infância. In: Franceschini SC et al. *Nutrição e saúde da criança*. Rio de Janeiro: Rúbio; 2018. 467-482.

HNIA, K., VACCARI, I., BOLINO, A., LAPORTE, J. Myotubularin phosphoinositide phosphatases: cellular functions and disease pathophysiology. **Trends in Molecular Medicine**, v.18, p.317–327, 2012.

HOTTA, K., KITAMOTO, T., KITAMOTO, A., MIZUSAWA, M., MATSUO, T., NAKATA, Y., et al. Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. **Journal of human genetics**, v.56, n.9, p.647-651, 2011.

JÄÄSKELÄINEN, A., SCHWAB, U., KOLEHMAINEN, M., KAAKINEN, M., SAVOLAINEN, M.J., FROGUEL, P., et al. Meal frequencies modify the effect of common genetic variants on body mass index in adolescents of the northern Finland birth cohort 1986. **PLoS One**, v.8, n.9, 2013.

JESS, T., ZIMMERMANN, E., KRING, S.I., BERENTZEN, T., HOLST, C., TOUBRO, S., et al. Impact on weight dynamics and general growth of the common FTO rs9939609: a longitudinal Danish cohort study. **International Journal of Obesity**, v.32, p.1388–94, 2008.

JOHNSON, L., LUKE, A., DENG, H. W., MITCHELL, B. D., COMUZZIE, A. G., COLE, S. A., et al. Meta-analysis of five genome-wide linkage studies for body mass index reveals significant evidence for linkage to chromosome 8p. **International Journal of Obesity**, v.29, p.413–419, 2005.

KHAN S. M., WIRTH, M. D., ORTAGLIA, A., ALVARADO, C. R., SHIVAPPA, N., HURLEY, T. G., et al. Design, development and construct validation of the children's dietary inflammatory index. **Nutrients**, v.10, n.8, p.993, 2018.

KIPELAINEN, T.O., QI, L., BRAGE, S., SHARP, S. J., SONESTEDT, E., DEMERATH, E., et al. Physical Activity Attenuates the Influence of FTO Variants on Obesity Risk: A Meta-Analysis of 218,166 Adults and 19,268 Children. **PLoS Medicine**, v.8, n.11, 2011.

KNOW, E.J., YOU, Y. A., PARK, B., HA, E. H., KIM, H. S., PARK, H., et al. Association between the DNA methylations of POMC, MC4R, and HNF4A and metabolic profiles in the blood of children aged 7–9 years. **BMC Pediatrics**, 2018.

KOOCHAKPOOR, G., HOSSEINI-ESFAHANI, F., DANESHPOUR, M. S., HOSSEINI, S. A., MIRMIRAN, P. Systematic Review or Meta-analysis Effect of interactions of polymorphisms in the Melanocortin-4 receptor gene with dietary factors on the risk of obesity and Type 2 diabetes: a systematic review. **Diabetic Medicine**, v.33, p.1026- 1034, 2016.

KREUTZER, C., PETERS, S., SCHULTE, D. M., FANGMANN, D., TÜRK, K., WOLFF, S., et al. Hypothalamic inflammation in human obesity is mediated by environmental and genetic factors. **Diabetes**, 2017.

LAURIA, F., SIANI, A., PICÓ, C., AHRENS, W., BAMMANN, K., HENAUW, S., et al. A Common Variant and the Transcript Levels of MC4R Gene Are Associated with Adiposity in Children: The IDEFICS Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.10, n.11, p.4229-4236, 2016.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.32, p.2045–2051, 2012.

LLEWELLYN, C. H., JAARVELD, C. H. M. V., PLOMIN, R., FISHER, A., WARDLE, J. Inherited behavioral susceptibility to adiposity in children: a multivariate genetic analysis of appetite and weight in the birth cohort of twins. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2012.

LOBSTEIN, T., JACKSON-LEACH, S., MOODIE, M.L., HALL, K.D., GORTMAKER, S.L., SWINBURN, B.A. Child and adolescent obesity: part of a bigger picture. **The Lancet**, v.385, p.2510- 20, 2015.

LOOS, R.J., BOUCHARD, C. FTO: The first gene contributing to common forms of human obesity. **Rev Obes**, 14(3): 246-250, 2008.

LOPEZ-GARCIA, E., SCHULZE, M. B., FUNG, T. T., MEIGS, J. B., RIFAI, N., MANSON, J. E., et al. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, n.4, p.1029 – 1035, 2004.

LOUZADA, M.L.C., MARTINS, A. P. B., CANELLA, D. S., BARALDI, L. G., LEVY, R. B., CLARO, R. M., et al. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.49, n.38, p.1-11, 2015.

LOPIZZO N, BOCCHIO-CHIAVETTO L, CATTANE N, PLAZZOTTA G, TARAZI FI, PARIANTE CM et al. Gene–environment interaction in major depression: focus on experiencedependent biological systems. **Frontiers in Psychiatry**, v.6, n.68, 2015.

LV, D., ZHANG, D.D., WANG, H., ZHANG, Y., LIANG, L., FU, J.F. et al. Genetic variations in SEC16B, MC4R, MAP2K5 and KCTD15 were associated with childhood obesity and interacted with dietary behaviors in Chinese school-age population. **Gene**, v.560, p.149– 155, 2015.

MARQUI, A. B. T. Síndrome de Turner e polimorfismo genético: uma revisão sistemática. **Revista Paulista de Pediatria**, v.33, n.3, p.364-371, 2015.

MARTINS, M.C., TRUJILLO, J., FREITAS-VILELA, A. M., FARIAS, D. R., ROSADO, E. L., STRUCHINER, C. J., et al. Associations between obesity candidate gene polymorphisms (fat mass and obesity-associated (FTO), melanocortin-4 receptor (MC4R), leptin (LEP) and leptin receptor (LEPR)) and dietary intake in pregnant women. **British Journal of Nutrition**, v.120, p.454–463, 2018.

MENEGUELLI, T. S., HINKELMANN, J. V., NOVAES, J. F., ROSA, C. O. B., FILGUEIRAS, M. S., SILVEIRA, B. K. S., et al. Dietary Inflammatory Index is Associated with Excessive Body Weight and Dietary Patterns in Subjects with Cardiometabolic Risk. **Journal of Food and Nutrition Research**, v.7, p.491-499, 2019.

MILLINGTON, G.W.M. The role of proopiomelanocortin (POMC) neurones in feeding behaviour. **Nutrition & Metabolism**, v.4, n.18, 2007.

MINIHANE, A. M., VINOY, S., RUSSELL, W. R., BAKA, A., ROCHE, H. M., TUOHY, K. M., et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: Current research evidence and its translation. **The British Journal of Nutrition**, v.114, p.999–1012, 2015.

MIZUNO, T. M. Fat Mass and Obesity Associated (FTO) Gene and Hepatic Glucose and Lipid Metabolism. **Nutrients**, v.10, 2018.

MOTA, G.R., ZANESCO, A. Leptina, grelina e exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.51, n.1, p.25-33, 2007.

NAMBAM, B., DUBOSE, S. N., NATHAN, B. M., BECK, R. W., MAAHS, D. M., WADWA, R. P. et al; T1D Exchange Clinic Network. Therapeutic inertia: underdiagnosed and undertreated hypertension in children participating in the T1D Exchange Clinic Registry. **Pediatric Diabetes**, v.17, n.1, p.15–20, 2016.

NAVARRO, P., DIOS, O.D., JOIS, A., GAVELA-PEREZ, T., GORGOJO, L., MARTIN-MORENO, J., et al. Vegetable and fruit intakes are associated with Hs-CRP levels in pre-pubertal girls. **Nutrients**, v.9, n.3, p.224, 2017.

NEUSTADT, J. Western diet and inflammation. **Integrative Medicine**, v.5, n.4, p.14-18, 2006.

OBREGON, A. M., OYARCE, K., SANTOS, J. L., VALLADARES, M., GOLDFIELD, G. Association of the melanocortin 4 receptor gene rs17782313 polymorphism with rewarding value of food and eating behavior in Chilean children. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v.73, p.29–35, 2017

OLIVEIRA, T. M. S., BRESSAN, J., PIMENTA, A. M., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A., SHIVAPPA, N., HÉBERT, J. R., et al. Dietary inflammatory index and prevalence of overweight and obesity in Brazilian graduates from the Cohort of Universities of Minas Gerais (CUME project). **Nutrition**, v.71, 2020.

OLSZEWSKI, P.K., et al. Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. **BMC Neuroscience**, 2009.

OLZA, J., RUPEREZ, A. I., GIL-CAMPOS, M., LEIS, R., FERNADEZ-ORTH, D., TOJO, R., et al. Influence of FTO variants on obesity, inflammation and cardiovascular disease risk biomarkers in Spanish children: a case–control multicentre study. **BMC Medical Genetics**, v.14, 2013.

PAUSOVA, Z., SYME, C., ABRAHAMOWICZ, M., XIAO, Y., LEONARD, G. T., PERRON, M. et al. A common variant of the FTO gene is associated with not only increased adiposity but also elevated blood pressure in French Canadians. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, v.2, p.260–269, 2009.

PAYAB, M., KELISHAD, R., QORBANI, M., MOTLAGH, M.E., RANJBAR, S. H., ARDALAN, G., et al. Association of junk food consumption with high blood pressure and obesity in Iranian children and adolescents: the Caspian-IV Study. **The Journal of Pediatrics**, v.91, p.196-205, 2015.

PETTERMANN, F., VILLAGRAN, M., TRONCOSO, C., MARDONES, L., LEIVA, A. N., MARTÍNEZ, M. A., et al. Asociación entre el polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* y marcadores de adiposidad em población adulta chilena. **Revista médica de Chile**, v.146, p.717 – 726, 2018.

PIRES, A., SENA, C., SEIÇA, R. Dyslipidemia and cardiovascular changes in children. **Current Opinion in Cardiology**, v.31, n.1, p.95-100, 2016.

PRÉCOMA, D. B., OLIVEIRA, G. M. M., SIMÃO, A. F., DUTRA, O. P., COELHO, O. R., IZAR, M. C.O., et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v.113, n.4, p.787-891, 2019.

QI, L., KHANG, K., ZHANG, C., DAM, R. M. V., KRAFT, P., HUNTER, D., et al. Fat Mass – and Obesity-Associated (*FTO*) Gene Variant Is Associated with Obesity. Longitudinal Analyses in Two Cohort Studies and Functional Test. **Diabetes**, v.57, 2008.

RAMALLAL, R., TOLEDO, E., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M.A., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, A., GARCÍA-ARELLANO, A., SHIVAPPA, N., et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the SUN Cohort. **PLoS One**, v.10, n.9, 2015.

RANKINEN, T., ZUBERI, A., CHANGON, Y.C., WEISNAGEL, S.J., ARGYROPOULOS, G., WALTERS, B., et al. The human obesity gene map: the 2005 update. **Obesity**, v.14, p.529–644, 2006.

RANZENHOFER, L. M., MAYER, L. E. S., DAVIS, H. A., MIELKI-MADAY, H. K., MCINERNEY, H., KORN, R., et al. The FTO Gene and Measured Food Intake in 5- to 10-Year-Old Children Without Obesity. **Obesity**, v.27, p.1023-1029, 2019.

REILLY, J. J., KELLY, J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. **International journal of obesity**, v.35, p.891–898, 2011.

REINEHR, T., HEBEBRAND, J., FRIEDEL, S., TOSCHKE, A.M., BRUMM, H., BIEBEMANN, H. et al. Lifestyle intervention in obese children with variations in the melanocortin 4 receptor gene. **Obesity (Siver Spring)**, v.17, n.2, p.382-9, 2009.

RODRIGUES, A.M., SUPLICY, H.L., RADOMINSKI, R.B. Controle Neuroendócrino do Peso Corporal: Implicações na Gênese da Obesidade. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v.47, n.4, 2003.

RUSSELL, M. A., MORGAN, N. G. Conditional expression of the FTO gene product in rat INS-1 cells reveals its rapid turnover and a role in the profile of glucose-induced insulin secretion. **Clinical Science**, v.120, p. 403–413, 2011.

SABARNEH, A., EREQAT, S., CAUCHI, S., ABUSHAMMA, O., ABDELHAFEZ, M., IBRAHIM, M., et al. Common FTO rs9939609 variant and risk of type 2 diabetes in Palestine. **BMC Medical Genetics**, 2018.

SAKLAYEN, M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. **Current Hypertension Reports**, v.20, n.12, 2018.

SCHAFER, A., HAWKINS, J.R. DNA variation and the future of human genetics. **Nature Biotechnology**, v.16, p.33-39, 1998.

SEN, S., RIFAS-SHIMAN, S. L., SHIVAPPA, N., WIRTH, M. D., HEBERT, J. R., GOLD, D. R., et al. Associations of prenatal and early life dietary inflammatory potential with childhood adiposity and cardiometabolic risk in project viva. **Pediatric Obesity**, v.13, n.5, p.292–300, 2018.

SHIVAPPA, N., STECK, S. E., HURLEY, T. G., HUSSEY, J. R., MA, Y., OCKNE, I. S., et al. A population-based dietary inflammatory index predict levels of C-reactive protein in the Seasonal Variation of Blood Cholesterol Study (SEASONS). **Public Health Nutrition**, v.17, n.8, p.1825-1833, 2014c.

SHIVAPPA, N., BOSETTI, C., ZUCCHETTO, A., MONTELLA, M., SERRAINO, D., VECCHIA, C. L., et al. Association between dietary inflammatory index and prostate cancer among Italian men. **British Journal of Nutrition**, p.1-6, 2014a.

SHIVAPPA, N., STECK, S. E., HURLEY, T. G., HUSSEY, J. R., HÉBERT, J. R., et al. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. **Public Health Nutrition**, v.17, n.8, p.1689-1696, 2014b.

SHIVAPPA, N., HÉBERT, J., RIETZSCHEL, E. R., BUYZERE, M. L. D., LANGLOIS, M., DEBRUYNE, E. et al. Associations between dietary inflammatory index and inflammatory markers in the Asklepios Study. **British Journal of Nutrition**, v.113, n.4, p.665-671, 2015.

SHIVAPPA, N., GODOS, J., HÉBERT, J., WIRTH, M., PIURI, G., SPECIANI, A. F. et al. Dietary Inflammatory Index and cardiovascular risk and mortality—A meta-analysis. **Nutrients**, v.10, n.200, 2018.

SIKHAYEVA, N., ISKAKOVA, A., SAIGI-MORGUI, N., ZHOLDYBAEVA, E., EAP, C. B., RAMANCULOV, E. Association between 28 single nucleotide polymorphisms and type 2 diabetes mellitus in the Kazakh population: a case-control study. **BMC Medical Genetics**, v.18, n.76, 2017.

SILVA, C. F., ZANDONÁ, M. R., VITOLO, M. C., CAMPAGNOLO, P. D. B., ROTTA, L. N., ALMEIDA, S., et al. Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. **BMC Medical Genetics**, 2013.

SILVEIRA, B. K. S., OLIVEIRA, T. M. S., ANDRADE, P. A., HERMSDORFF, H. H. M., ROSA, C., O. B., FRANCESCHINI, S. C. C. Dietary pattern and macronutrients profile on the variation of inflammatory biomarkers: Scientific update. **Cardiology Research and Practice**, p.1–18, 2018.

SKINNER, A. C., MAYER, M. L., FLOWER, K., WEINBERGER, M. Health status and health care expenditures in a nationally representative sample: how do overweight and healthy-weight children compare? **Pediatrics**, v.121, n.2, p.e269-e277, 2008.

SONG, J.Y., SONG, Q.Y., WANG, S., WANG, H.J. Physical Activity and Sedentary Behaviors Modify the Association between Melanocortin 4 Receptor Gene Variant and Obesity in Chinese Children and Adolescents. **PLoS One**, p.1-11, 2017.

SOUZA, L.S.M., PRIORE, S.E., FRANCESCHINI, S.C.C. Métodos de avaliação da composição corporal em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, v.27, n.3, p.315-321, 2009.

SOVIO, U., MOOK-KANAMORI, D. O., WARRINGTON, N. M., LAWRENCE, R., BRIOLLAIS, L., PALMER, C. N. A., et al. Association between Common Variation at the FTO Locus and Changes in Body Mass Index from Infancy to Late Childhood: The Complex Nature of Genetic Association through Growth and Development. **PLoS One**, 2011.

STEEMBURGO, T., AZEVEDO, M. J., GROSS, J. L., MILAGRO, F. I., CAMPION, J., MARTÍNZEZ, J. A., et al. The rs9939609 polymorphism in the FTO gene is associated with fat and fiber intakes in patients with type 2 diabetes. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, v.6, n.2, p.97-106, 2013.

- STITZIEL, N, O. Human genetic insights into lipoproteins and risk of cardiometabolic disease. **Current Opinion in Lipidology**, v.28, n.2, p.113-119, 2017.
- STUNKARD, A.J., SORENSEN, T.I., HANIS, C., TEASDALE, T.W., CHAKRABORTY, R., SCHULL, W.J., et al. An adoption study of human obesity. **The New England Journal of Medicine**, v.314, p.193-8, 1986.
- STUTZMANN, F., CAUCHI, S., DURAND, E., CAVALCANTI-PROENÇA, C. Common genetic variation near MC4R is associated with eating behaviour patterns in European populations. **International Journal of Obesity**, v.33, n.3, p.373-378, 2009.
- SUHETT, L. G., HERMSDORFF, H. H. M., RIBEIRO, S. A. V., FILGUEIRAS, M. S., SHIVAPPA, N., HÉBERT, J. R., NOVAES, J. F. The dietary inflammatory index is associated with anti- and pro-inflammatory adipokines in Brazilian schoolchildren. **European Journal of Nutrition**, v. 1, p. 1-9, 2021.
- TANABE, A. YANAGIYA, T., LIDA, A., SAITO, S., SEKINE, A., TAKAHASHI, A., et al. Functional SNPs in the secretogranin III (SCG3) gene that forms secretory granules with appetite-related neuropeptides are associated with obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.92, p.1145– 1154, 2007.
- TANG, L., TONG, Y., CAO, H., XIE, S., YANG, Q., ZHANG, F., et al. The MTMR9 rs2293855 polymorphism is associated with glucose tolerance, insulin secretion, insulin sensitivity and increased risk of prediabetes. **Gene**, v.546, p.150–155, 2014
- TIMPSON, N.J., NORDESTGAARD, B.G., HARBORD, R.M., ZACHO, J., FRAYLING, T.M., TYBJÆRG-HANSEN, A., SMITH, G.D. C-reactive protein levels and body mass index: elucidating direction of causation through reciprocal Mendelian randomization. **International Journal of Obesity**, v.35, p.300–308, 2011.
- TIROSH, A., SHAI, I., AFEK, A., DUBNOV-RAZ, G., AYALON, N., GORDON, B., et al. Adolescent BMI trajectory and risk of diabetes versus coronary disease. **The New England journal of medicine**, v.364, p.1315–1325, 2011.
- ULLOA, N., VILLAGRAN, M., RIFFO, B., GLEISNER, A., PETERMANN-ROCHA, F., MARDONES, L., et al. Association between FTO gene rs9939609 and adiposity markers in Chilean children. **Revista Chilena de Pediatría**, v.91, n.3, p.371-378, 2020.
- URPI- SARDA, M., CASAS, R., CHIVA-BLANCH, G., ROMERO-MAMANI, E. S., VALDERAS-MARTINEZ, P., ARRANZ, S., et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. **Pharmacological Research**, v.65, n.6, p.577-583, 2012.
- VAISSE, C., CLEMENT, K., GUY-GRAND, B, FROGUEL, P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. **Nature Genetic**, v.20, n.2, p.113-114, 1998.

VALLADARES, M., DOMINGUEZ-VASQUEZ, P., OBREGON, A. M., WEISSTAUB, G., BURROWS, R., MAIZ, A., et al. Melanocortin-4 receptor gene variants in Chilean families: association with childhood obesity and eating behavior. **Nutritional Neuroscience**, v.13, n.2, p.71-78, 2010.

VAN NIEL, C., PACTER, L. M., WADE, R. J. R., FELITTI, V. J., STEIN, M. T. Adverse events in children: predictors of adult physical and mental conditions. **Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics**, v.35, p.549–551, 2014.

VAN RIJN, M. J. E., SCHUT, A. F. C., AULCHENKO, Y. S., DEINUM, J., SAYED-TABATABAEI, F. A., YAZDANPANA, M. et al. Heritability of blood pressure traits and the genetic contribution to blood pressure variance explained by four blood-pressure-related genes. **Journal of Hypertension**, v.25, p.565–570, 2007.

VERONESE, N., STUBBS, B., KOYANAGI, A., HEBERT, J.R., COOPER, C., CARUSO, M. G., et al. Pro-inflammatory dietary pattern is associated with fractures in women: an eight year longitudinal cohort study. **Osteoporosis International**, v.29, n.1, p.143–151, 2018.

WAHLEN, K., SJOLIN, E., HOFFSTEDT, J. The common rs9939609 gene variant of the fat mass- and obesity-associated gene *FTO* is related to fat cell lipolysis. **The Journal of Lipid Research**, v.49, p.607–611, 2008.

WANG, C.Y., SHIE, S.S., HSIEH, I.C., TSAI, M.L. WEN, M. S. *FTO* modulates circadian rhythms and inhibits the CLOCK-BMAL1-induced transcription. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2015.

WEIHE, P., WEIHRAUCH-BLÜHER, S. Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Diagnostic Criteria, Therapeutic Options and Perspectives. **Current Obesity Reports**, v.8, n.4, p.472-479, 2019.

WILLEIT, P., THOMPSON, S. G., AGEWALL, S., BERGSTRÖM, G., BICKEL, H., CATAPANO, A. L., et al. Inflammatory markers and extent and progression of early atherosclerosis: Meta-analysis of individual-participant-data from 20 prospective studies of the PROG-IMT collaboration. **European Journal of Preventive Cardiology**, v.23, p.194–205, 2016.

WILLYARD, C. Heritability: The family roots of obesity. **Nature**, v.508, p.S58–S60, 2014.

WU, Y.Y., LYE, S., BRIOLLAIS, L. The role of early life growth development, the *FTO* gene and exclusive breastfeeding on child BMI trajectories. **International Journal of Epidemiology**, v.46, n.5, p.1512-1522, 2017.

XI, B., CHANDAK, G.R., SHEN, Y., WANG, Q., ZHOU, D. Association between common polymorphism near the MC4R gene and obesity risk: a systematic review and meta-analysis. **PloS One**, 2012.

XI, B., ZHANG, M., WANG, C., SHEN, Y., ZHAO, X., WANG, X., et al. The common SNP (rs9939609) in the FTO gene modifies the association between obesity and high blood pressure in Chinese children. **Molecular Biology Reports**, v.40, p.773–778, 2013.

YANAGIYA, T., TANABE, A., LIDA, A., SAITO, S., SEKINE, A., TAKAHASHI, A., et al. Association of single-nucleotide polymorphisms in MTMR9 gene with obesity. **Human Molecular Genetics**, v.16, p.3017–3026, 2007.

YARIZADEH, H., MIRZABABAEI, A., GHODOOSI, N., POOYAN, S., DJAFARIAN, K., CLARK, C. C. T., et al. The interaction between the dietary inflammatory index and MC4R gene variants on cardiovascular risk factors. **Clinical Nutrition**, 2020.

ZAMORA – ROS, R., SHIVAPPA, N., STECK, S. E., CANZIAN, F., LANDI, S., ALONSO, M. H., et al. Dietary inflammatory index and inflammatory gene interections in relation to colorectal câncer risk in the Bellvitge colorectal câncer case-control study. **Genes and Nutrition**, v.10, n.1, 2015.

ZHANG, G., KARNIS, R., NARANCIC, N. S., SUN, G., CHEMG, H., MISSONI, S., et al. Commom SNPs in FTO gene are associated with obesity-related anthropometric characteristics in na island population of the Adriatic eastern coast of Croatia. **PLoS One**, v.5, n.4, 2010.

ZHONG, X., GUO, L., ZHANG, L., LI, Y., HE, R., et al. Inflammatory potential of diet and risk of cardiovascular disease or mortality: A metaanalysis. **Scientific Reports**, v.7, 2017.

ZOU, J., CHANG, S.C., MARJANOVIC, J., MAJERUS, P.W., MTMR9 increases MTMR6 enzyme activity, stability, and role in apoptosis. **Journal of Biological Chemistry**, v.284, p.2064–2071, 2009.

### 3. JUSTIFICATIVA

As doenças cardiovasculares têm se tornado a principal causa de mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis, sendo evidenciado a ocorrência de dislipidemia, hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica em crianças. Além disso, a presença dessas patologias na infância tende a se perpetuar na vida adulta.

A alimentação é um importante fator de risco modificável para o desenvolvimento de doenças cardiometabólicas. Já se tem evidenciado na literatura a associação entre o consumo de uma dieta pró-inflamatória e maior risco cardiometabólico. No entanto, além do consumo alimentar, fatores genéticos também apresentam grande importância no desenvolvimento destes agravos à saúde.

Diante disso, torna-se importante avaliar o perfil genético dos indivíduos, para que sejam traçadas estratégias individualizadas para a mudança de comportamento, identificando alvos terapêuticos para uma maior prevenção e monitoramento das alterações cardiometabólicas e da dieta inflamatória em fases iniciais da vida.

Até o momento, de acordo com o nosso conhecimento, não foi encontrado nenhum estudo que avaliou a relação dos polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* com o risco cardiometabólico e o consumo de uma dieta inflamatória na infância.

Nesse sentido, destaca-se o ineditismo deste estudo que buscou avaliar a relação de polimorfismos genéticos com o risco cardiometabólico, a partir de marcadores não-tradicionais, tais como índices de Castelli I e II, coeficiente aterogênico, índice de combinação de lipoproteína e índice aterogênico do plasma, bem como com o perfil inflamatório da dieta avaliado por meio de um instrumento validado para o público pediátrico e ainda pouco explorado na literatura.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral:

Avaliar a associação dos polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* com o risco cardiometabólico e o perfil inflamatório da dieta de crianças.

### 4.2 Objetivos Específicos:

- Avaliar a associação dos polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* e escore genético com o risco cardiometabólico em crianças brasileiras.
- Analisar a relação dos polimorfismos nos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* e escore genético com o perfil inflamatório da dieta em crianças brasileiras.

## **5. METODOLOGIA GERAL**

### **5.1. Características do estudo**

Este estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Determinantes genéticos, ambientais e consumo alimentar de desfechos de peso e composição corporal em duas coortes de crianças desde o nascimento até 7 anos”. Este, refere-se à junção de dois outros projetos maiores intitulados: 1) “Vitamina D na infância: ingestão, nível sérico e associação com fatores de risco cardiovasculares”, proveniente da Pesquisa de Avaliação da Saúde do Escolar (PASE); 2) “Associação do padrão alimentar com alterações metabólicas e de composição corporal em crianças de 4 a 7 anos de idade”, pertencente ao Programa de Apoio à Lactação (PROLAC).

### **5.2 Pesquisa de Avaliação da Saúde do Escolar (PASE)**

#### **5.2.1. Delineamento do estudo e casuística**

Trata-se de um estudo transversal com amostra representativa de crianças de 8 e 9 anos, matriculadas em todas as escolas urbanas públicas e privadas do município de Viçosa - MG.

O município de Viçosa-MG está localizado na Zona da Mata Mineira, a 227 km da capital Belo Horizonte. De acordo com o Censo 2010, Viçosa apresenta uma extensão territorial de 299,4 km<sup>2</sup> e 72.220 habitantes, sendo que 93,2% residem em zona urbana. O Produto Interno Bruto (PIB) per capita é de R\$ 9.597,00 e o Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é de 0,775, considerado Desenvolvimento Humano alto, superior ao índice estadual e nacional (0,731 e 0,755, respectivamente) (IBGE, 2011).

Em 2015, o município contava com 17 escolas públicas (10 municipais e 7 estaduais) e 7 privadas que atendiam 1.464 crianças na faixa etária de 8 e 9 anos. A partir deste universo, as crianças foram selecionadas aleatoriamente e o convite para participação foi realizado aos pais ou responsáveis.

Os critérios de não inclusão foram: crianças em uso de medicamentos ou com alterações de saúde que pudesse interferir no seu estado nutricional, composição corporal, perfil lipídico, pressão arterial, metabolismo glicídico, bem como crianças

com deficiência física, cognitiva ou múltipla e a não realização do contato com os pais ou responsável após três tentativas.

Foi realizado um estudo piloto na Escola Professor Doutor Januário de Andrade Fontes (Centro Educacional Nanete), com 10% da amostra, a fim de se testar a aplicação dos questionários, aferição das medidas antropométricas e a avaliação da alimentação escolar. As crianças foram selecionadas para o estudo piloto de maneira aleatória e não foram incluídas na amostra final deste estudo.

### **5.2.2 Aspectos éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, processo n° 663.171/2014 (ANEXO A). O mesmo também foi aprovado pela Secretaria Municipal de Educação, Superintendência Regional de Ensino e direção das escolas.

Os participantes do estudo, bem como seus responsáveis, foram informados sobre os objetivos do trabalho e os pais/responsáveis que autorizaram a participação da criança, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **5.2.3 Tamanho e processo de amostragem**

Para a realização do cálculo amostral, utilizou-se o *software* Open Epi (Versão 3.03). Considerou-se o número total de escolares com 8 e 9 anos (n=1.464) em 2015 e prevalência de 50%, visto que o estudo considerou múltiplos desfechos; precisão desejada de 5%; nível de confiança de 95% e acréscimo de 20% de perdas (LUIZ et al., 2009), totalizando 366 crianças.

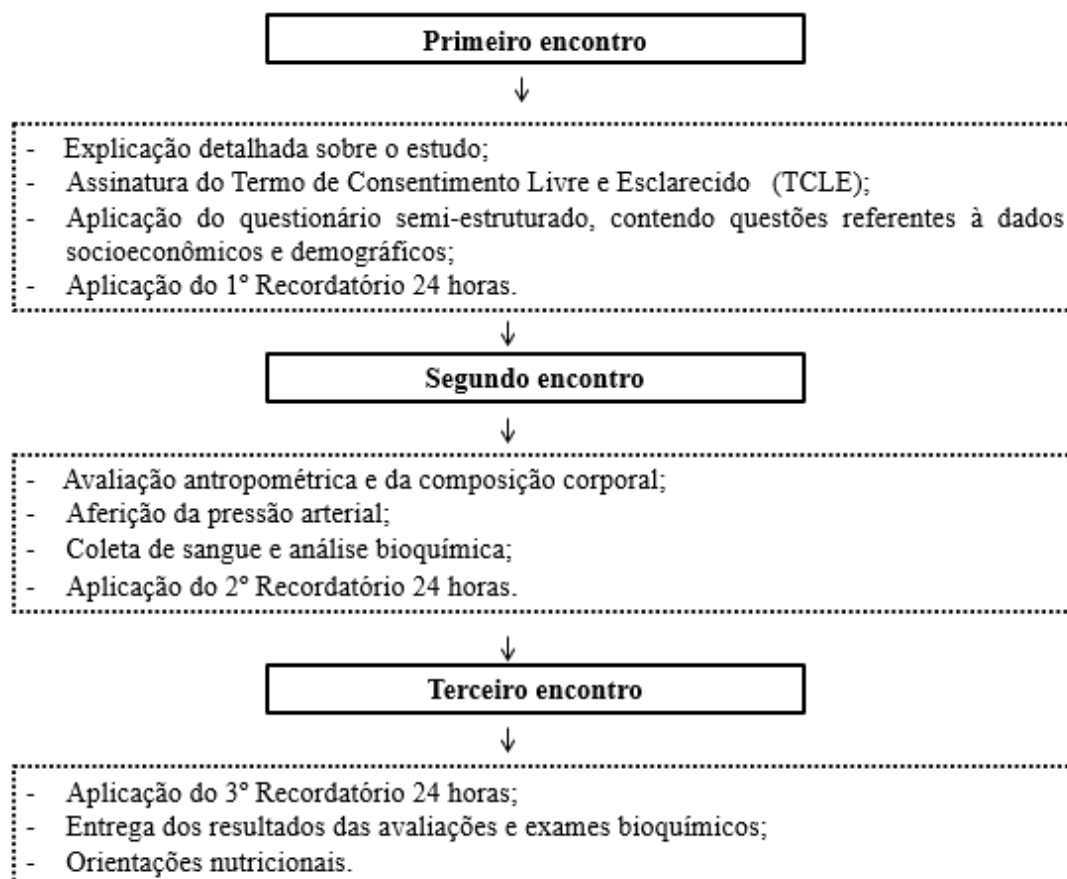
O processo de amostragem dos escolares foi realizado em duas etapas. Primeiro realizou-se o cálculo da amostra por escola, segundo a proporção de alunos que a escola representava em relação ao tamanho amostral total calculado. Em seguida, os alunos foram selecionados por meio de sorteio aleatório, utilizando-se tabela de números aleatórios até completar o número de alunos necessários para cada escola. Após o sorteio, foi realizado contato telefônico com os pais ou responsáveis pela criança, convidando-os a participar do estudo e esclarecendo os objetivos e a metodologia empregada. Quando o responsável pela criança concordava em participar, era agendado o primeiro encontro.

### 5.2.4 Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada na Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa, em três encontros. No primeiro encontro foi explicado de maneira minuciosa cada etapa do trabalho e aqueles que concordaram em participar assinaram o TCLE. Em seguida, foi aplicado o questionário semiestruturado contendo questões referentes aos dados socioeconômicos e demográficos e foi aplicado o primeiro recordatório 24 horas (R24H).

No segundo encontro, foi realizada avaliação das medidas antropométricas e da composição corporal, avaliação bioquímica e aplicado o segundo R24H.

O terceiro encontro contou com a aplicação do terceiro R24H e entrega dos resultados dos exames com orientações para os pais e as crianças. Aqueles que tiveram alterações nos exames receberam orientação nutricional e foram encaminhados para serviços públicos de saúde (Figura 3).



**Figura 3.** Fluxograma da coleta de dados.

Fonte: SILVA, 2018.

Quando em algum momento ocorreu recusa da participação, foi selecionado um substituto da criança, seguindo a lista na ordem de sorteio, e foi realizado o mesmo procedimento de contato telefônico até a amostra total ser completada.

### **5.3. Programa de Apoio à Lactação (PROLAC)**

#### **5.3.1. Delineamento do estudo e casuística**

Trata-se de um estudo de coorte retrospectiva, realizado com todas as crianças nascidas no único hospital maternidade de Viçosa - MG e acompanhadas pelo Programa de Apoio à Lactação (PROLAC) durante os seis primeiros meses de vida. Estas crianças foram reavaliadas nas idades entre 4 e 7 anos.

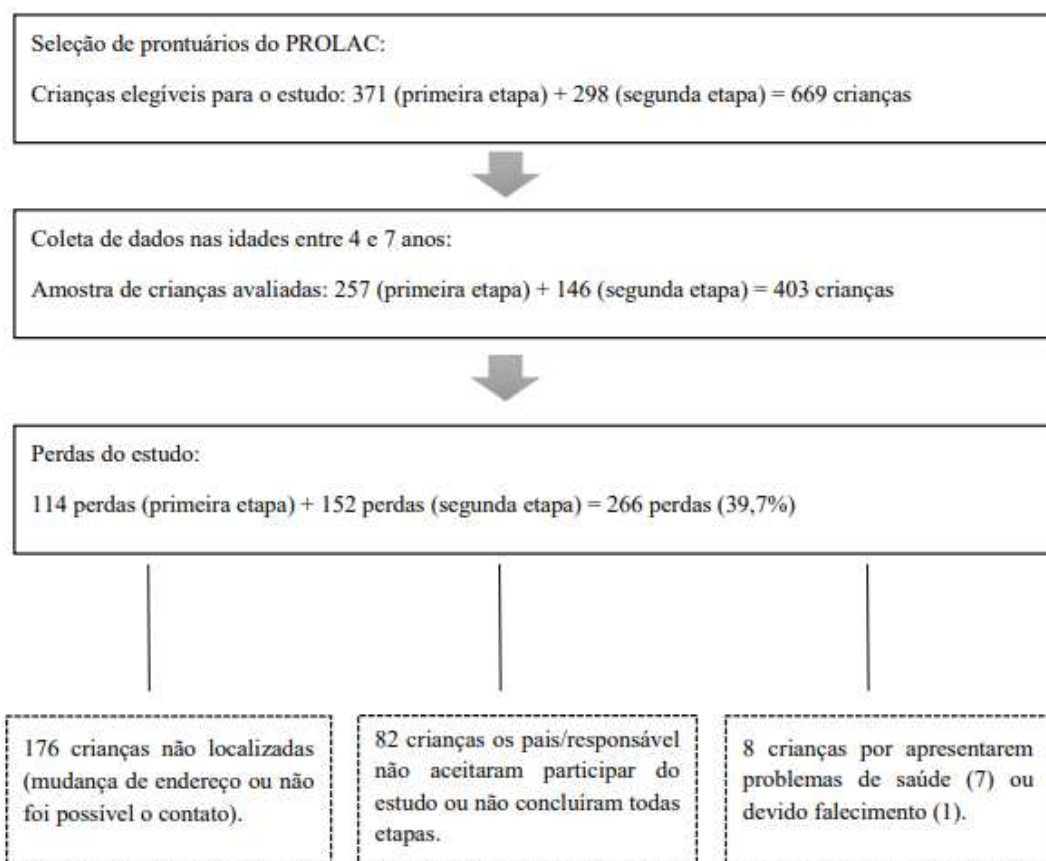
O PROLAC é um Programa de Extensão da Universidade Federal de Viçosa, em parceria com o Hospital São Sebastião (único hospital maternidade do município) e o Banco de Leite Humano de Viçosa. As crianças foram acompanhadas mensalmente e tiveram suas informações registradas em prontuários estabelecidos.

A primeira etapa da coleta de dados aconteceu no período de novembro de 2010 a dezembro de 2011. Nesta etapa, foram selecionados os prontuários de 371 crianças, atendidas no PROLAC no período de agosto de 2003 a novembro de 2007. Destas, 257 crianças participaram da pesquisa e foram avaliadas aos 4-7 anos (VIEIRA, 2012).

A segunda etapa da coleta contou com a avaliação de 298 prontuários das crianças acompanhadas entre dezembro de 2007 a janeiro de 2011. A coleta se deu no período de janeiro de 2015 a março de 2016, sendo que 146 crianças foram avaliadas (VIEIRA, 2017). Assim, considerando-se as duas etapas da coleta, a amostra final do estudo foi de 403 crianças (Figura 4).

Para participar do estudo, considerou-se como critérios de inclusão: as crianças terem idade entre 4 e 7 anos; informações no prontuário referente a localização das crianças; assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsáveis das crianças e a realização de todas as etapas do estudo.

Como critérios de não-inclusão adotou-se: uso de medicamentos ou alguma alteração de saúde que pudesse interferir no estado nutricional, composição corporal, perfil lipídico, pressão arterial e metabolismos glicídico aos 4-7 anos.



**Figura 4.** Etapas da coleta de dados, com suas respectivas perdas.

Fonte: VIEIRA, 2017.

### 5.3.2 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa, processo nº 892.476/2014 (ANEXO B) e todos os participantes, bem como seus responsáveis, foram informados sobre o objetivo do trabalho e os pais/responsáveis que autorizaram a participação da criança, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### 5.3.3 Coleta de dados

#### Informações retrospectivas:

Foram coletados nos prontuários os dados de identificação da criança, endereço, telefone e data de nascimento.

#### Visitas domiciliares:

Com base nos dados coletados nos prontuários, foram realizadas visitas domiciliares para localização das crianças e convite para participação no estudo. Os pais e responsáveis das crianças foram informados quanto ao objetivo do estudo, e aqueles que concordaram em participar, assinaram o TCLE. Neste momento foi agendado o primeiro encontro na Divisão de Saúde da UFV.

## **5.4. Projeto Determinantes genéticos**

### **5.4.1. Delineamento do estudo e casuística**

Este trabalho trata da junção das amostras dos estudos PASE e PROLAC. A coleta de dados foi realizada no município de Viçosa - MG, no período de agosto a dezembro de 2018. Ao juntar os dois bancos de dados (PASE e PROLAC) obteve-se uma amostra de 781 crianças. No entanto, 20 crianças haviam participado de ambos projetos e estavam duplicadas no banco de dados. Sendo assim, um total de 761 crianças foram elegíveis para participar do trabalho.

### **5.4.2. Aspectos éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (parecer nº 2.832.590/2018) (ANEXO C). Os participantes do estudo e seus responsáveis, foram informados sobre o objetivo do trabalho e os pais/responsáveis que autorizaram a participação da criança, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **5.4.3 Coleta de dados**

Das 761 crianças elegíveis para participar do estudo, apenas 543 foram localizadas. Realizou-se contato telefônico com os pais e responsáveis das crianças, a fim de atualizar as informações de endereço e escola que a criança estava matriculada. Após confirmadas essas informações, realizou-se o contato com a direção de todos os colégios públicos e privados de Viçosa, que continham crianças participantes do projeto. O objetivo e as etapas da pesquisa foram informados à escola, e solicitada autorização para fazer a avaliação das crianças dentro do espaço escolar. Após

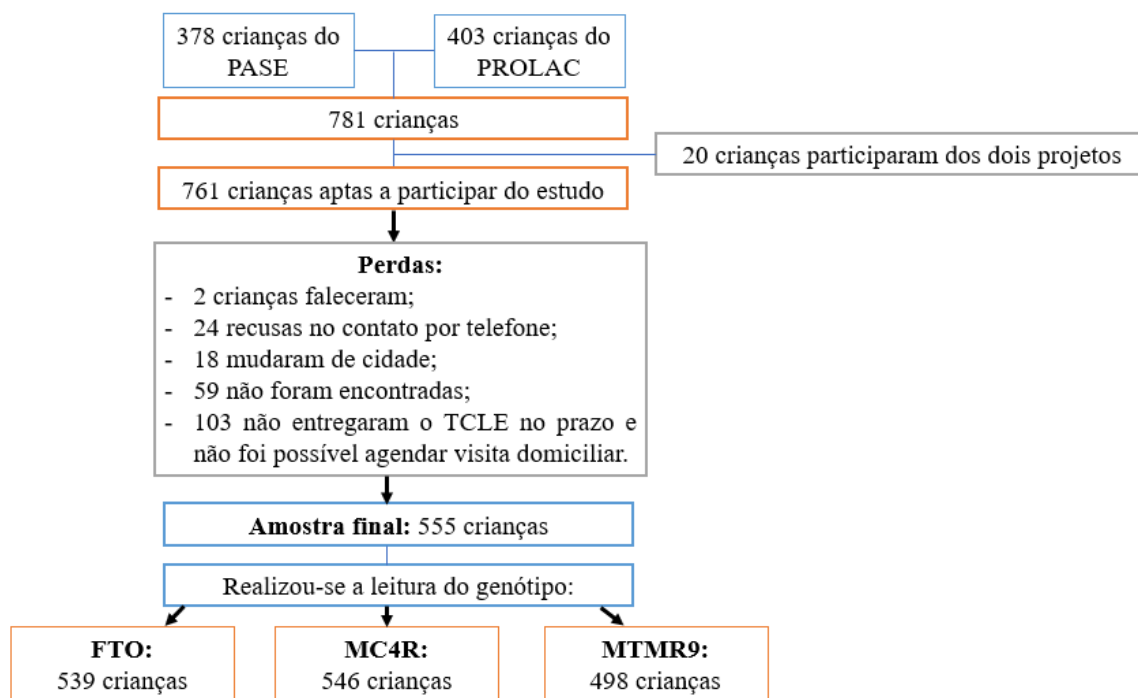
consentimento, o(a) diretor (a) ou supervisor (a), assinou uma autorização, concordando com a realização do projeto na escola.

Quanto às crianças que não foram localizadas pelo contato telefônico, no momento da visita escolar, foi solicitado o acesso às listas de chamadas da escola para verificar se a criança estava matriculada. Caso a criança estivesse matriculada na escola, o contato telefônico era atualizado e realizada nova tentativa de contato com os pais ou responsáveis. Ainda, para aquelas que não foram encontradas nas listas de chamada das escolas, realizou-se a busca ativa nos sistemas escolares da rede municipal e estadual e também nos endereços que se tinham cadastrados, da época da primeira participação no projeto.

Após identificados todos os participantes, foi entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) às crianças e solicitado que fosse encaminhado aos pais ou responsáveis para preenchimento e autorização da participação no estudo. Após essa etapa, foi agendada na escola a data da coleta do *swab* bucal.

Na data marcada, os TCLEs foram recolhidos e realizada a avaliação das crianças. Em relação àqueles que não entregaram o TCLE, foi feita uma nova abordagem na escola solicitando a assinatura. Caso o TCLE não fosse entregue assinado, os pais eram novamente contactados por telefone para verificar se a recusa era definitiva ou se havia a possibilidade de realizar a avaliação em ambiente externo à escola. No caso de recusa definitiva, a criança não foi incluída na pesquisa. Já aqueles que aceitaram dar continuidade, a coleta foi agendada no domicílio.

A figura 5 representa o fluxograma da coleta de dados.



**Figura 5.** Fluxograma para a coleta de dados no projeto “Determinantes genéticos”.

Fonte: elaboração própria.

#### 5.4.4. Cálculo do poder do estudo

Foi realizado o cálculo do poder do estudo para todas as variáveis analisadas, considerando-se a variável com menor poder. Ao comparar as médias e desvios-padrão do colesterol total no grupo sem o alelo de risco do gene *MTMR9* (GG / AG) ( $155,7 \pm 26,2$ ) e com o alelo de risco (AA) ( $158,2 \pm 33,3$ ), o nível de significância estatística foi de 5% e o tamanho da amostra teve poder  $> 80\%$ . Foi utilizado para análise o *software* OpenEpi online.

#### 5.4.5 Coleta do swab bucal

As crianças foram orientadas a bochechar previamente com água, repetindo o processo por duas vezes. Após isso, foi feita a coleta, raspando a face interna das bochechas com escova citológica esterilizada (*swab*) em movimentos circulares (aproximadamente 30 vezes). As escovas tiveram a porção externa das hastas cortadas e colocadas em microtubos autossustentáveis com tampa de rosca de 2,0 ml, previamente identificados, contendo etanol absoluto. As amostras foram colhidas em duplicata e

dispostas em *hacks* de papelão, sendo armazenadas em geladeira até o momento da extração do DNA.

#### 5.4.6 Extração do DNA

A extração do DNA foi realizada na Universidade Federal de Minas Gerais, no Laboratório de Genética e Bioquímica. Para extração foi utilizado o kit SYBR *Green Extract-N-Amp Tissue Kit* (Sigma®). Os tubos contendo o *swab bucal* e etanol foram centrifugados a 12.000 rpm durante 10 segundos para a formação do precipitado de DNA. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e os tubos invertidos sobre papel absorvente por 30 a 40 minutos para evaporação do etanol residual.

Nos tubos contendo o precipitado de DNA, foram adicionados 200 µl de solução de extração e 25 µl de solução de preparo tecidual. Na sequência, foram homogeneizados no vortex e permaneceram em temperatura ambiente durante 10 minutos e, então, incubados a 95°C durante três minutos. Após essa etapa, foram adicionados 200 µl de solução de neutralização. As amostras foram previamente quantificadas no nanodrop e ajustadas para a concentração de 2,5 ng/µl por diluição em água milli-Q. O restante do DNA extraído foi armazenado a - 80°C.

#### 5.4.7 Genotipagem dos polimorfismos dos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9*

A metodologia da cadeia de polimerase em tempo real (PCR) TaqMan™ SNP *Genotyping assays* (HAMPE et al., 2001) foi utilizada para a discriminação dos alelos, tipificando o material genético amostral para os SNPs estudados. A metodologia TaqMan™ SNP *Genotyping* foi baseada na utilização de ensaio pré-desenhado e validado pela empresa *Applied Biosystems* (ABI) (número de catálogo: 4351379).

O ensaio comercial contém um par de oligonucleotídeos iniciadores que amplificam um fragmento (aproximadamente 50 pb) onde está localizado os SNPs, e um par de sondas alelos específicos. As sondas foram marcadas com o fluoróforo FAM e VIC, sendo os resultados obtidos a partir da amplificação das amostras de DNA, acessados pelas sondas alelos específicos, e, assim, para cada ensaio foi possível definir o genótipo dos indivíduos em estudo.

Para a realização das reações foram preparadas a mistura de 2,25 µl de DNA na concentração de 2,5 ng/µl; 0,25 µl do ensaio para o loco na diluição de 20 x e 2,5 µl de

TaqMan™ SNP *Genotyping master mix*, totalizando 5 µl finais de reação. Estas, foram realizadas em placas 384 *wells*, preparadas em banho de gelo, a fim de se evitar a diminuição do volume da reação, devido a evaporação e foram selecionados os parâmetros de ciclagem de 10 min a 95 °C e 50 ciclos de 15 segundos a 95 °C (desnaturação) e 1 min a 60 °C (anelamento e extensão), utilizando o aparelho 7900HT *Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems)*.

Foi utilizado o mesmo material genético em todas as placas para as repetições, acrescido do controle positivo, para indicar algum possível erro de tipagem e controles brancos da reação, contendo água bidestilada autoclavada ao invés de DNA, denominados pelos programas de NTC (*No Template Control*).

Os programas usados para o desenho das placas e para visualização dos resultados foram o SDS v2.4 *software* e o TaqMan™ *genotyper software*, respectivamente, todos desenvolvidos pela empresa *Applied Biosystems*. As classificações comerciais do ensaio da metodologia TaqMan™ SNP *Genotyping* usada pela ABI específica para o estudo do loco *FTO* é C\_\_30090620\_10, loco *MC4R* é C\_\_32667060\_10 e loco *MTMR9* é C\_\_16185294\_10.

Para a identificação do genótipo de cada indivíduo, verificou-se o comprimento de ondas das fluorescências emitidas por cada amostra, discriminando dessa forma os alelos. Os alelos foram evidenciados pelos fluoróforos VIC (fluoresce na região vermelha do espectro visível, indicando os alelos AA para o *FTO*, CC para o *MC4R* e AA para o *MTMR9*), FAM (fluoresce na região azul do espectro visível, indicando os alelos TT para o *FTO* e *MC4R* e GG para o *MTMR9*) e VIC/FAM (fluoresce na região verde do espectro visível, indicando os alelos AT para o gene *FTO*, CT para o *MC4R* e AG para o *MTMR9*).

As informações detalhadas dos genes avaliados são apresentadas no quadro a seguir.

Quadro 1: Características dos polimorfismos estudados.

Gene	SNP estudado	Genótipos	Genótipo com polimorfismo	VIC	FAM
<i>FTO</i>	rs9939609	TT/AT/AA	AA	A	T
<i>MC4R</i>	rs17782313	TT/TC/CC	CC	C	T
<i>MTMR9</i>	rs2293855	GG/AG/AA	AA	A	G

#### 5.4.8 Escore de risco genético

O escore de risco genético foi calculado utilizando-se as informações do genótipo dos indivíduos, de acordo com a composição alélica dos três genes. Os genótipos foram codificados em 0, 1, 2 e 3, criando-se uma pontuação de risco somando os números dos genótipos de cada participante do estudo, assim, recebeu a pontuação 0 o indivíduo que não apresentou nenhum genótipo de risco (TT, TT, GG), 1 o indivíduo que apresentou polimorfismo no gene *FTO* ou *MC4R* ou *MTMR9*, 2 àquele que apresentou o polimorfismo de dois genes e 3 os indivíduos que apresentaram todos os polimorfismos. Como não há informações de tamanho de efeito desses polimorfismos não foram criados pesos específicos de alelos de risco de cada polimorfismo (JÄÄSKELÄINEN et al., 2013).

#### **5.4.9 Variáveis do estudo PASE e PROLAC**

##### **5.4.9.1 Avaliação sociodemográfica**

Foi aplicado um questionário padronizado, pré-codificado e pré-testado em estudo piloto pelos pesquisadores, contendo variáveis sociodemográficas tais como, sexo e idade das crianças, escolaridade materna e renda per capita.

##### **5.4.9.2 Avaliação do consumo alimentar**

A avaliação do consumo alimentar no estudo PASE foi realizada pela média de três recordatórios 24 horas, aplicados por nutricionista treinada, em dias não consecutivos, sendo um quantitativo referente ao fim de semana. As crianças responderam aos inquéritos alimentares acompanhadas de seus pais ou responsáveis, sendo entrevistado preferencialmente aquele diretamente envolvido com a alimentação da criança.

Para auxiliar os participantes na determinação do tamanho das porções ingeridas, foram utilizados utensílios caseiros e figuras de porcionamento de alguns alimentos em álbum fotográfico (ZABOTTO, 1996).

Já no estudo PROLAC, a avaliação do consumo alimentar das crianças se deu por meio do preenchimento de três registros alimentares, em dias não consecutivos e incluindo um dia de final de semana. Foi solicitado que os registros fossem preenchidos pelos pais ou responsáveis da criança e os mesmos receberam orientações a respeito do correto preenchimento. Ainda, na escola, os responsáveis pela distribuição da

alimentação registraram os alimentos/preparações e as quantidades consumidas pelas crianças.

No ato da entrega dos registros alimentares, os mesmos foram conferidos junto ao responsável pelo preenchimento, a fim de se completar as informações que estavam faltando.

Apesar de nos dois estudos terem sido utilizados instrumentos diferentes para a coleta das informações do consumo, destaca-se que os inquéritos foram preenchidos pelos pais das crianças, sendo os instrumentos aplicados em três dias para uma estimativa da ingestão habitual das crianças. Além disso, o consumo foi ajustado pela variabilidade intraindividual dos participantes (WILLETT e STAMPFER, 1998).

A quantidade de cada alimento ingerido, obtidos por meio da aplicação do recordatório 24h e do registro alimentar, foi transformada em gramas, com base na tabela de conversão dos alimentos da FAO. Essa quantidade foi convertida em energia.

A análise do consumo alimentar foi realizada com o auxílio do *software Diet Pro*® 5i, versão 5.8 (DIET, PRO. 1997), sendo selecionadas a Tabela de Composição dos Alimentos (TACO, 2011) e a Tabela de Composição Química dos Alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

#### **5.4.9.2.1 Avaliação do índice inflamatório da dieta infantil (IID-I)**

Para amostra do estudo PASE (n=292) foi calculado o Índice Inflamatório da Dieta Infantil (IID-I). O cálculo é realizado a partir do banco de dados do PASE e um banco de dados mundial, representativo, que fornece uma estimativa global da média e desvio-padrão de cada parâmetro utilizado no IID-I.

Foi criado um escore-z para cada parâmetro, subtraindo a “média padrão” do valor relatado e dividindo este valor pelo desvio-padrão global. O escore-z foi então convertido em proporções para minimizar o efeito da “*right skewing*”. O resultado foi centrado em zero (nulo) e limitado entre -1 (antiinflamatório máximo) e +1 (pró-inflamatório máximo), dobrando cada proporção e subtraindo 1. Em seguida, esse escore da proporção foi multiplicado pelo respectivo escore de efeito do parâmetro alimentar, derivado da revisão de literatura, com o objetivo de se obter o IID-I de cada parâmetro alimentar para um indivíduo. Por fim, todas as pontuações dos parâmetros alimentares foram somadas, obtendo-se o IID-I geral de cada criança.

O IID-I foi ajustado por 1.000 Kcal consumidos, afim de se levar em consideração a diferença na ingestão energética dos indivíduos. Dos 25 possíveis parâmetros alimentares utilizados para calcular os escores do IID-I (KHAN et al., 2018), o presente projeto utilizou 16, como seguem: carboidrato, proteína, gordura total, gordura saturada, ácidos graxos monoinsaturado e poliinsaturados, fibra, ferro, zinco, magnésio, vitaminas B1, B2, B3, B6, C e D. Um escore de IID-I mais alto indica uma dieta pró-inflamatória.

#### **5.4.9.3. Avaliação antropométrica e da composição corporal**

Em todas as crianças, foi realizada as medidas antropométricas de peso e altura.

O peso foi mensurado utilizando balança digital eletrônica (Tanita®, modelo BC 553, Arlington Heights, IL, EUA), com capacidade de 150kg e sensibilidade de 50g. As crianças foram pesadas sem calçados e com o uso de roupas leves (JELLIFFE, 1968).

A estatura foi aferida utilizando-se um antropômetro vertical (Altuxata®, Belo horizonte, MG, Brasil), dividido em centímetros e subdividido em milímetros, segundo as normas preconizadas por Jelliffe (1968).

Com os dados obtidos de peso e estatura, foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC). Para obtenção do índice em escore-z, foi utilizado o *Software WHO Anthro Plus* (WHO, 2009) e a classificação do estado nutricional das crianças foi feita segundo a *World Health Organization* (WHO, 2006; WHO, 2007).

A avaliação da composição corporal (% gordura total, androide, ginoide e troncal) foi realizada mediante o método de Absorciometria de raios-x de dupla energia (DXA - Dual Energy X-ray Absorptiometry) para avaliação da composição corporal. O exame foi realizado na Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Este equipamento é considerado método de referência para avaliação da composição corporal sendo que, devido ao baixo nível de radiação, não oferece riscos à saúde (SOPHER et al., 2005). Durante o escaneamento, a criança permaneceu em posição supina sobre a mesa e os raios foram emitidos e medidos por um detector discriminante de energia. Para a realização do exame seguiu-se o protocolo estabelecido pelo laboratório, que estabelece que a criança deve estar com roupa leve, sem brinco, pulseira ou qualquer adorno de metal.

#### 5.4.9.4. Avaliação do comportamento sedentário

O comportamento sedentário foi avaliado por meio do tempo de tela em minutos, incluindo televisão, *videogame*, computador, celular e *tablet*. Foi classificado como sedentária a criança que teve um tempo de tela maior ou igual a 2 horas/dia de acordo com *American Academy of Pediatrics* (2013).

#### 5.4.9.5. Avaliação bioquímica

No estudo PASE e PROLAC, os exames bioquímicos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. As amostras foram coletadas por punção venosa com as crianças em jejum de 12 horas. Foram realizadas as dosagens dos marcadores do perfil lipídico (colesterol total, HDL-c, LDL-c e triglicerídeos). A partir desses marcadores foram calculados o colesterol não HDL-c e os índices aterogênicos (índices de Castelli I e II, coeficiente aterogênico, índice de combinação de lipoproteína e índice aterogênico do plasma).

#### - Marcadores do perfil lipídico e risco aterogênico

Os triglicerídeos (TG), colesterol total (CT) e frações (HDL-c, LDL-c) foram quantificados por um equipamento automático (BioSystems 200 modelo Mindray®, Nanchan, China) de acordo com as recomendações do fabricante do kit (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brasil). Crianças com pelo menos um dos seguintes parâmetros alterados foram classificadas com dislipidemia: CT  $\geq 170$  mg/dL, HDL-c  $< 45$  mg/dL, LDL-c  $\geq 110$  mg/dL, TG  $\geq 75$  mg/dL (FALUDI et al, 2017).

Foram calculados o índice de risco de Castelli I (CT/HDL-c) e o índice de risco de Castelli II (LDL-c/HDL-c), e o colesterol não HDL-c estimado pela equação: (CT - HDL-c). O índice aterogênico do plasma (AIP) foi definido como o logaritmo de base 10 da razão TG/HDL-c. O coeficiente aterogênico (AC) e o índice de combinação de lipoproteínas (LCI) foram definidos como relações não-HDL-c/HDL-c e CT\*TG\*LDL/HDL-c, respectivamente. O valor de LCI foi dividido por 1.000 (WU et al., 2018; MILLÁN et al., 2009; DOBIÁŠOVÁ et al., 2001).

#### 5.4.10 Variáveis do estudo

As variáveis utilizadas nesse estudo são apresentadas no quadro a seguir.

Quadro 2. Variáveis analisadas neste projeto.

	Variável	Tipo	Descrição
ARTIGO 1	Sexo	Dicotômica	Masculino; Feminino
	Idade	Contínua	Anos completos
	Estatura/idade (escore-Z)	Categórica	<-1 a 0; 0 a 1; >1
	IMC/idade (escore-Z)	Categórica	<-2; -2 a 1; 1 a 2; >2
	% Gordura corporal total	Categórica	1º tercil (<15,7); 2º tercil (15,7 a 24,4); 3º tercil (>24,4)
	Comportamento sedentário	Dicotômica	≤ 2 horas; > 2 horas
	Renda per capita - US\$	Categórica	1º tercil (<90,1); 2º tercil (90,1 a 157,8); 3º tercil (>157,8)
	Escolaridade Materna	Categórica	≤ 4; 5 a 10; 11; ≥12
	Colesterol total*	Contínua	mg/dl
	HDL-c*	Contínua	mg/dl
	LDL-c*	Contínua	mg/dl
	TG*	Contínua	mg/dl
	Colesterol não-HDL*	Contínua	mg/dl
	TC/HDL-c*	Contínua	-
	LDL-c/HDL-c*	Contínua	-
	AC*	Contínua	-
	LCI*	Contínua	-
	AIP*	Contínua	-
	Gene <i>FTO</i>	Categórica	TT, AT, AA
	Gene <i>MC4R</i>	Categórica	TT, TC, CC
Gene <i>MTMR9</i>	Categórica	GG, AG, AA	
Escore Genético	Categórica	0, 1, ≥2	
ARTIGO 2	Sexo	Dicotômica	Masculino; Feminino
	Idade	Contínua	Anos completos
	Comportamento sedentário	Contínua	horas/dia
	Renda per capita	Contínua	US\$
	Gordura corporal	Contínua	Percentual (%)
	IID-I*	Contínua	-
	Gene <i>FTO</i>	Categórica	TT, AT, AA
	Gene <i>MC4R</i>	Categórica	TT, TC, CC
	Gene <i>MTMR9</i>	Categórica	GG, AG, AA
	Escore Genético	Categórica	0, 1, ≥2

\*Desfechos principais de cada artigo.

#### 5.4.11 Retorno aos participantes

Todas as crianças que participaram dos projetos foram acompanhadas durante a realização da pesquisa e receberam, juntamente com seus pais, atendimento nutricional individual para a entrega dos resultados com as respectivas orientações nutricionais e para a saúde. As crianças com desvios nutricionais tiveram orientação específica e, quando necessário, foram encaminhadas para as Estratégias de Saúde da Família da sua região domiciliar.

## 5.5 Análises Estatísticas

Os dados foram digitados e armazenados no Microsoft Office Excel 2007 e as análises realizadas no programa Stata® versão 14 (StataCorp LP, College Station, TX, USA).

Foi realizada análise descritiva dos dados individuais. A partir das frequências alélicas e genóticas de cada um dos polimorfismos foi realizado o teste de qui-quadrado para verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Os marcadores do risco cardiometabólico e o perfil inflamatório da dieta foram considerados variáveis desfecho, e o polimorfismo dos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9* como variáveis explicativas. Utilizou-se as medidas de frequência para variáveis qualitativas e medidas de tendência central (média ou mediana) e de dispersão (desvio padrão ou intervalo interquartil) para variáveis quantitativas.

Foram realizados os testes de tendência linear, derivados de modelos de regressão linear com as variáveis desfecho na forma contínua e as variáveis explicativas categóricas como preditor contínuo. Em seguida, foi comparado as distribuições de resultados (variáveis contínuas) por categorias de genótipos usando diferenças médias e intervalos de confiança de 95% (IC95%) de modelos de regressão linear multivariável bruto e ajustados.

Estimativas robustas da variância foram especificadas em todos os modelos (WHITE, 1980). O nível de significância foi estabelecido em 5% para todos os testes de hipótese.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliado pelo teste do qui-quadrado, sendo verificado o equilíbrio nas frequências genóticas dos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9*.

## 5.6 REFERÊNCIAS

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Council on Communications and Media Children, adolescents, and the media. **Pediatrics**, v.132, n.5, p.958–961, 2013.

DIET, Pro. "Versão 5. i." Software de avaliação nutricional e prescrição dietética. UFV. Viçosa, MG, Brasil. AS Sistema (1997).

DOBIÁŠOVÁ, M., FROHLICH, J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apob-lipoprotein-depleted plasma (FERHDL). **Clinical biochemistry**, v.34, n.7, p.583-8, 2001.

HAMPE, J., WOLLSTEIN, A., LU, T., FREVEL, H.J., WILL, M., MANASTER, C., SCHREIBER, S. An integrated system for high throughput TaqMan based SNP genotyping. **Bioinformatics**, v.17, n.7, p.654-655, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Indicadores Sociais. Uma análise dos resultados do universo do Censo Demográfico 2010. Estudos & Pesquisas: informações demográfica e socioeconômica, 2011.

JÄÄSKELÄINEN, A., SCHWAB, U., KOLEHMAINEN, M., KAAKINEN, M., SAVOLAINEN, M.J., FROGUEL, P., et al. Meal frequencies modify the effect of common genetic variants on body mass index in adolescents of the northern Finland birth cohort 1986. **PLoS One**, v.8, n.9, 2013.

JELLIFFE, D.B. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad. Ginebra: OMS; 1968.

KHAN S. M., WIRTH, M. D., ORTAGLIA, A., ALVARADO, C. R., SHIVAPPA, N., HURLEY, T. G., et al. Design, development and construct validation of the children's dietary inflammatory index. **Nutrients**, v.10, n.8, p.993, 2018.

LUIZ, R.R., MAGNANINI, M.M.F. O tamanho da amostra em investigações epidemiológicas. In: Medronho RA et al. Epidemiologia. 2º ed. São Paulo: Atheneu. 2009. 415-429.

MILLÁN, J., PINTÓ, X., MUÑOZ, A., ZÚÑIGA, M., RUBIÉS-PRAT, J., PALLARDO, L. F., et al. Lipoprotein ratios: physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. **Vascular health and risk management**, v.5, p.757, 2009.

FALUDI, A. A., IZAR, M. C., SARAIVA, J. F., CHACRA, A. P., BIANCO, H. T., AFIUNE-NETO, A., et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v.109, n.2, p1-76, 2017.

SILVA, M.A. Consumo de produtos ultraprocessados, fatores associados e relação com risco cardiometabólico em crianças pré-púberes de Viçosa-MG. Viçosa. Dissertação [Mestrado em Ciência da Nutrição] – Universidade Federal de Viçosa; 2018.

SOPHER, A., SHEN, W., PIETROBELLI, A. Pediatric body composition methods. In: Human Body Composition. Heymsfield SB, Lohman TGL, Wang Z, Going SB. Human Kinetics, 2ª Edição, 2005, 522 p.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4ed. revisada e ampliada. Campinas, SP: UNICAMP, 2011. Disponível em: [http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\\_4\\_edicao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf?arquivo=ta\\_co\\_4-versao\\_ampliada\\_e\\_revisada.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=ta_co_4-versao_ampliada_e_revisada.pdf).

USDA. (United States Department of Agriculture) National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/list>.

VIEIRA, S. A. Influência das velocidades de ganho de peso e comprimento nos primeiros seis meses de vida no estado nutricional, composição corporal e perfil lipídico de crianças de 4 a 7 anos de idade. Viçosa. Dissertação [Mestrado em Ciência da Nutrição] – Universidade Federal de Viçosa; 2012.

VIEIRA, S. A. Padrão alimentar, adiposidade corporal e fatores de risco cardiometabólico em crianças de 4 a 7 anos de idade. Tese [Doutorado em Ciência da Nutrição] – Universidade Federal de Viçosa; 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. Bulletin of the World Health Organization, v.85, p.660-667, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO AnthroPlus for personal computers Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Geneva: WHO, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO child growth standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development. Geneva: WHO; 2006.

ZABOTTO, C. B., VIANNA, R. P. T., GIL, M. F. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Goiânia: Nepa -Unicamp; 1996.

WHITE, H. A heteroskedasticity-consistent covariance matrix estimator and a direct test for heteroskedasticity. **Econometrica**, v.48, p.817–838, 1980.

WILLETT, W.; STAMPFER M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: WILLETT W. Nutritional epidemiology. 2nded. New York: Oxford University Press, 1998. 514p.

WU, T. T., GAO, Y., ZHENG, Y. Y., MA, Y. T., XIE, X. Atherogenic index of plasma (AIP): a novel predictive indicator for the coronary artery disease in postmenopausal women. **Lipids in health and disease**, v.17, n.1, p.197, 2018.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta tese serão apresentados na forma de dois artigos originais:

1. *MTMR9* rs2293855 polymorphism gene and genetic score are associated with higher atherogenic risk in Brazilian children (Será submetido ao periódico *American Journal of Clinical Nutrition* - Qualis A1).
2. *FTO* rs9939609 polymorphism gene and the genetic score are associated with most pro-inflammatory diet in Brazilian schoolchildren (Será submetido ao periódico *The Journal of Nutrition* – Qualis A1).

## 6.1 Artigo original 1

### ***MTMR9* rs2293855 polymorphism gene and genetic score are associated with higher atherogenic risk in Brazilian children**

#### **ABSTRACT**

**Objective:** Evaluate the association of *FTO*, *MC4R*, *MTMR9* gene, and the genetic score with atherogenic risk in Brazilian children.

**Methods:** This is a cross-sectional study conducted with 544 children aged 4 to 9. We obtained sociodemographic and lifestyle data by questionnaires, and biological sample (DNA) through oral *swab*. The polymorphism of the *FTO* (rs9939609), *MC4R* (rs17782313) and *MTMR9* (rs2293855) genes was evaluated and the genetic score was calculated. The atherogenic risk was assessed by dyslipidemia markers (Castelli I and II indexes, atherogenic coefficient (CA), lipoprotein combination index (LCI) and plasma atherogenic index). To determine the association between genotype and atherogenic risk, we used linear regression adjusted for sex, age, screen time, per capita income, maternal education, total energy intake and % body fat.

**Results:** Individuals with AG/AA genotypes in the gene *MTMR9* had a lower HDL-c level and higher TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c ratios and AI, after adjustment. Children who had one or more polymorphisms were negatively associated with HDL-c and positively associated with TC/HDL-c, AI, LCI and AIP.

**Conclusion:** We conclude that the risk allele of the *MTMR9* gene and the genetic score were positively associated with higher levels of atherogenic biomarkers in Brazilian children.

**Key-words:** children, polymorphism genetic, dyslipidemias, cardiovascular disease.

## INTRODUCTION

Cardiovascular diseases (CVD) are responsible annually for the death of 17.9 million people in the world (WHO, 2018), and the rise in plasma lipids is an important risk factor for its occurrence (Poss et al., 2011). Dyslipidemia is characterized by the increase in the concentration of lipids or lipoproteins in the blood and can be influenced by environmental, behavioral, and genetic factors (Brazilian Guideline on Dyslipidemia, 2017), being the latter responsible for about 40% of this occurrence (Weis et al., 2006).

In adults, the relationship between the genes *FTO*, *MTMR9* (Hotta et al., 2011) and *MC4R* (Kang et al., 2015) and dyslipidemia is already presented. A study identified that individuals carriers of the *FTO* rs9939609 A-allele showed changes in the lipid profile (Doney et al., 2009), however, the results are conflicting (Doney et al., 2009; Freathy et al., 2008) and in the pediatric public still scarce. Knowing the gene-disease relationship is of great importance, as it allows early action in the prevention and treatment of pathologies, and also, because we present different responses when the same intervention occurs (Steemburgo et al., 2009).

In the pediatric public, this information is even more important, since children with changes in their lipid profile are more likely to become dyslipidemic adults (Juhola et al., 2011). In addition, childhood dyslipidemia was associated with the occurrence of cardiovascular diseases in adulthood (Pires et al., 2016), since these changes cause aggressions in the vascular endothelium, which in turn leads to the formation of atherosclerotic plaques and development of atherosclerosis, a chronic inflammatory disease that affects the intima layer of medium and large caliber arteries (Faludi et al., 2017). In this context, early diagnosis and preventive action would reduce mortality in adults due to heart disease (Pires et al., 2016).

The association of increased levels of total cholesterol (TC), low-density lipoprotein (LDL-c) and triglycerides (TG) and low values of high-density lipoprotein (HDL-c) with the risk for CVD are well established in children (Guideliss, 2011; Viitasalo et al., 2019; Varda et al., 2020). However, it is necessary to evaluate other parameters, such as the LDL/HDL ratio, TC/HDL, atherogenic plasma index (AIP), atherosclerosis coefficient (AC) and the lipoprotein combined index (LCI), once that they have greater predictive capacity for cardiovascular risk than isolated traditional markers (Shen et al., 2016; Guo et al., 2020).

Considering the absence of studies that evaluated the occurrence of genetic polymorphisms with the dyslipidemia markers in childhood, and the contradictory findings in the adult population (Yanagiya et al., 2007; Hotta et al., 2011), the objective of this study was to evaluate the association of risk allele of the *FTO*, *MC4R* and *MTMR9* genes and the genetic score with atherogenic risk in Brazilian children. We hypothesize is that these alleles are associated with higher atherogenic risk.

## **METHODS**

### ***Participants and study design***

This is a cross-sectional study conducted with 544 children aged 4 to 9, in the city of Viçosa, Minas Gerais, Brazil, as part of the Schoolchildren Health Assessment Survey (PASE, in Portuguese) and the Lactation Support Program (PROLAC, in Portuguese) in 2015 and 2015/2016, respectively. Viçosa is a predominantly urban center of  $\approx 72,000$  inhabitants, located 227 km southeast of Belo Horizonte (IBGE, 2010).

PASE is a cross-sectional representative study. In 2015, the municipality had 24 urban public and private schools that cared for 1.464 children between 8 and 9 years old. The Epi Info software (version 7.2; Atlanta, GA) was used for final sample calculation considering the total population of 8 and 9 years old students from the data collected in urban schools in 2014/2015. The total population of students ( $n = 1.464$  students) was analyzed at 50% prevalence for multiple outcomes, 5% desired accuracy, 95% confidence interval and an increase of 20% of losses (Luiz et al., 2009). The final sample consisted of 366 children. The number of children in the sample was proportional to the total number of students in each school, considering the numerical proportion of each. Students were randomly selected to compose the sample needed from each school.

In relation to PROLAC, based on the evaluation of the program's medical records, 669 children were eligible to participate in the study. Of these, 176 were not located because of the change of address, 75 were not authorized by parents to participate or did not complete all stages of the study, eight had health problems that prevented participation and seven children were excluded for incomplete food intake data. Thus, 266 losses were recorded (39.8%), and an eligible sample was obtained to participate in this study of 403 children.

More detailed information of the PASE study design was previously reported (Filgueiras et al., 2019; Suhett et al., 2019) and the PROLAC study in Vieira-Ribeiro et al., (2019). The children were reevaluated in 2018, and genetic material was collected through an oral *swab*.

The sample size power of the study was calculated by adopting the means and standard deviations of the TC in the group without the risk allele of the MTMR9 gene (GG/AG) ( $155.7 \pm 26.2$ ) and with the risk allele (AA) ( $158.2 \pm 33.3$ ) by the OpenEpi *software*. The statistical significance level was 5%, and the sample size had power equal  $>80\%$ .

This study was developed according to the guidelines established in the Declaration of Helsinki and approved by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Viçosa (UFV, in Portuguese) (case n° 663.171/2014, n° 892476/2014 and n° 2.832.590/2018). All parents and children were informed about the purpose of the study and all guardians of the children signed the Informed Consent Form.

### ***Laboratory Methods***

All evaluations were done at the Laboratory of Clinical Analysis in UFV. Blood samples were collected after 12 hours of fasting, with disposable material and intravenous puncture in the morning.

Triglycerides (TG), total cholesterol (TC), and fractions (HDL-c, LDL-c) were quantified by automatic equipment (BioSystems 200 Mindray® model, Nanchan, China) according to the recommendations of the kit manufacturer (Bioclin ®, Belo Horizonte, MG, Brazil). Children with at least one of the following altered lipids were classified with dyslipidemia: TC  $\geq 170$  mg/dL, HDL-c  $< 45$  mg/dL, LDL-c  $\geq 110$  mg/dL, TG  $\geq 75$  mg/dL (Faludi, 2017).

The Castelli risk index I (TC/HDL-c) and Castelli index risk II (LDL-c/HDL-c) were calculated and the non-HDL-c was estimated by the equation: (TC - HDL-c). The atherogenic index of plasma (AIP) was defined as the base 10 logarithms of the TG/HDL-c ratio. The atherogenic coefficient (AC) and lipoprotein combine index (LCI) were defined as non-HDL-c/HDL-c and TC\*TG\*LDL/HDL-c ratios, respectively. The value of LCI was divided by 1000 (Wu et al., 2018; Millán et al., 2009; Dobiášová et al., 2001).

### ***Genotyping***

The oral swab collection was made with a sterile cytological brush (swab), repeating the process twice. The brushes were stored cooled, in absolute ethanol until the moment of DNA extraction.

The SYBR *Green Extract -N- Amp Tissue Kit* (Sigma®) kit was used for DNA extraction. Polymerase chain methodology was used in real-time (PCR), TaqMan™ SNP *Genotyping Assays* (Hampe et al., 2001), to discriminate the alleles, typifying the genetic material sample to the SNP studied. The TaqMan™ SNP *Genotyping methodology* was based on using a pre-designed assay and validated by the company *Applied Biosystems* (ABI) (catalog number: 4351379).

The same genetic material was used in all the plates for the repetitions, plus the positive control, to indicate any possible typing error and white reaction controls, containing autoclaved bidistilled water instead of DNA, called by the NTC programs (*No Template Control*).

The programs used to design the plates and visualize the results were SDS v2.4 *software* and TaqMan™ *genotyping software*, respectively, all developed by the company *Applied Biosystems*. The commercial classifications of the TaqMan™ SNP Genotyping methodology test used by ABI specific for the study of the *FTO* site is C\_30090620\_10, locus *MC4R* is C\_32667060\_10 and locus *MTMR9* is C\_16185294\_10.

The genotype of 528 children was read in relation to the *FTO* gene (TT: individuals without polymorphism; AT: heterozygous individuals with a risk allele; AA: individuals with polymorphism), 535 for the *MC4R* gene (TT: individuals without polymorphism; TC: heterozygous individuals with a risk allele; CC: individuals with polymorphism) and 544 for the *MTMR9* gene (GG: individuals without polymorphism; AG: heterozygous individuals with a risk allele; AA: individuals with polymorphism).

The genetic score was calculated using the genotype information according to the allelic composition of the three genes. The genotypes were coded zero, 1, 2 and 3, creating a score, adding the numbers of genotypes of each study participant thus received a score zero the individual who presented no risk allele (TT, TT, GG), 1 the individual who presented polymorphism in the *FTO* or *MC4R* or *MTMR9* gene, 2 the individual who presented the polymorphism of two genes, and 3 the individuals who presented all polymorphisms.

### ***Sociodemographic, economic, and lifestyle characteristics***

A semi-structured questionnaire was applied, pre-coded, and pre-tested in a pilot study by the researchers, containing variables such as sex of the children, maternal education, and household's per capita income.

Sedentary behavior was assessed using screen time, including television, video game, computer, cell phone, and tablets. According to the American Academy of Pediatrics (2013), the child who had a screen time > 2 hours/day was classified as sedentary.

### ***Anthropometry and body composition***

Weight and height measurements were performed in all children. Weight was measured using an electronic digital scale (Tanita®, model BC 553, Arlington Heights, IL, USA), with a capacity of 150kg and a sensitivity of 50g. Children were weighed without shoes and wearing light clothes (Jelliffe, 1968). Height was measured using a vertical anthropometer (Altuxata®, Belo Horizonte, MG, Brazil), divided into centimeters and subdivided into millimeters, according to the standards recommended by Jelliffe (1968).

Body composition was evaluated by Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA). The examination was carried out at the Health Division of the Federal University of Viçosa. This equipment is considered a reference method for assessing body composition and, due to the low radiation level, does not pose any health risk (Sopher et al., 2005). During the scanning, the child remained in a supine position, and the protocol was established for the child to be in light clothing, without earrings, bracelets, or any metal adornment.

### ***Food consumption***

The assessment of food consumption was performed by the average of three 24-hour recalls (R24h) and food records for the children of PASE and PROLAC, respectively. The questionnaire was applied by a trained nutritionist, on non-consecutive days, being one referring to the weekend. The children answered the food surveys accompanied by their parents or guardians, being interviewed preferentially to the one directly involved with the child's food.

To assist participants in determining the size of the portions ingested, homemade utensils and portioning figures of some foods were used in the photo album (Zabotto, 1996).

The analysis of food consumption was performed with the software *Diet Pro*® 5i, version 5.8 (Diet Pro, 1997), and the Food Composition Brazilian Table (*Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*) and the National Nutrient Database for Standard Reference of the United States Department of Agriculture were selected.

Although different instruments were used to collect consumption information in both studies, it is therefore not the ideal situation. It is noteworthy that the children's parents completed the surveys, and in both studies, the instrument was applied three times to have the usual intake of children. In addition, the adjustment by the intra-individual variability was made (Willett et al., 1998).

### **Data analyses**

**Exposures.** Genotypes polymorphisms (*FTO*, *MC4R*, *MTMR9*, and genetic score) as categorical variables.

**Outcomes.** Dyslipidemia markers (total cholesterol, LDL-c, HDL-c, triglycerides, non-HDL-c, TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c, AC, LCI, and AIP) as continuous variables.

**Covariates.** We considered as covariates the child's sex, height- and BMI-for age Z-score, body fat, screen time, the household's per capita income, maternal education, and total energy intake. Height- and BMI-for-age Z-score were calculated according to the sex- and age-specific reference for children and adolescents (de Onis et al., 2007).

**Statistical analyses.** We first compared the distributions as a mean  $\pm$  SD of outcome (dyslipidemia markers) by sociodemographic, anthropometric, body composition, and lifestyle characteristics. Tests for linear trend were derived from linear regression models with dyslipidemia markers as the continuous outcome and a variable representing the genetic variables' categories as a continuous predictor. Then, we compared the distributions of outcomes (dyslipidemia markers) by genotype categories using mean differences and 95% confidence intervals (CI) from unadjusted and multivariable linear regression models adjusted by sex, age, screen time, per capita income, maternal education, body fat, and total energy intake. The adjustment variables were selected based on the literature, and robust estimates of the variance were specified

in all models, which are consistent to heteroskedasticity and normality (White, 1980). Analyses were carried out in the Stata® version 14 (StataCorp LP, College Station, TX, USA). The significance level was set at 5% for all hypothesis tests.

The Hardy-Weinberg balance was assessed by the chi-square test, checking the balance in the genotypic frequencies of the *FTO*, *MC4R* and *MTMR9* genes.

## RESULTS

A total of 544 children participated in this study, with mean  $\pm$  SD age of participants was  $7.2 \pm 1.6$  years; 51.3% were girls, and 55.5% presented dyslipidemia. The prevalences of the polymorphism of genes *FTO*, *MC4R*, *MTMR9* were 18.0%, 4.7%, and 9.9%, respectively. Children with over two polymorphisms were 2.2%.

Height-for-age Z-score was negatively associated with LDL-c and LDL-c/HDL-c. BMI-for-age Z-score and body fat were negatively associated with HDL-c, and positively associated with TG, LCI, and AIP. In addition, BMI-for-age was positively associated with TC/HDL-c and AC. Per capita income and maternal education were positively associated with LDL-c, TG, LCI, and AIP. Moreover, maternal education was positively associated with TC, non-HDL-c, TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c, and AC, (Table 1).

We did not find associations of the risk alleles *FTO* and *MC4R* genes with the atherogenic risk (Tables 2 and 3).

After the adjustment for potential confounder, the dyslipidemia markers were positively associated with the risk alleles of the *MTMR9*. Individuals with GA/AA genotypes in the gene *MTMR9* were related, respectively, to -1.75 (95% CI: -3.12, -0.38), 0.15 (95% CI: 0.01, 0.29), 0.13 (95% CI: 0.01, 0.25), and 0.15 (95% CI: 0.01, 0.29) unit different in HDL-c, TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c and AC (Table 4).

In the same way, the genetic score was negatively associated with HDL-c and positively associated with the CT/HDL-c, AC, LCI and AIP. Children who had one or more polymorphisms was related to -2.11 (95% CI: -4.08, -0.14), 0.16 (95% CI: 0.02, 0.31), 0.16 (95% CI: 0.02, 0.31), 4.36 (95% CI: 0.30, 8.36), 0.04 (95% CI: 0.004, 0.08) units different in HDL-c, CT/HDL-c, AC, LCI and AIP, respectively, in comparison with children with null genetic score, after adjustment (Table 5).

## DISCUSSION

In this cross-sectional study with Brazilian children, we confirmed the hypothesis that the risk allele of the *MTMR9* gene and the genetic score were positively associated with higher atherogenic risk. We did not find associations of the risk alleles of the *FTO* and *MC4R* gene with the atherogenic risk in children.

We are the first to evidence the direct relationship between the *MTMR9* gene and the dyslipidemia markers (HDL-c, TC/HDL-c, LDL-c/HDL-c, and AC) in children, according to our knowledge. This association has been shown in Japanese adults (Hotta et al., 2011). A study carried out in an animal model identified the regulatory effect of feeding on gene expression, since mice that received a high-fat diet reduced the mRNA levels of *MTMR9* (Yanagiya et al., 2007). It is known that the higher consumption of fat also causes changes increase in the serum concentration of lipid markers (Ghobadi et al., 2018; Jolfaie et al., 2016; Rauber et al., 2015). Therefore, we can suppose that high-fat diet would be the link between the genotype and the occurrence of dyslipidemia.

Like any gene expressed in the hypothalamus, *MTMR9* plays a role in regulating food intake and influencing food preferences. In rodents, the *MTMR9* protein was found together with the neurotransmitter orexin, melanin-concentrating hormone, neuropeptide Y, and proopiomelanocortin, all involved in controlling food intake, body weight, and energy homeostasis (Yanagiya et al., 2007). Orexin was involved in decreasing thermogenesis and consequently reducing energy expenditure and stimulating food consumption (Nixon et al., 2015). It is speculated that this genetic stimulus of food consumption can alter of the markers of the lipid profile.

When separately evaluating the *FTO* and *MC4R* genes' relationship with dyslipidemia, we did not find significant results, which corroborates with other studies (Gesteiro et al., 2016; Szkup et al., 2017).

However, our findings showed that the genetic score was positively associated with the dyslipidemia markers (HDL-c, TC/HDL-c, AC, LCI, AIP). A review study identified that genetic scores have been a way of aggregating multiple sets of results into a single genetic predictor for cardiovascular diseases (Smith et al., 2015). It is important to consider the interrelation of genes in our body (Dudbridge et al., 2017), and studies have identified a higher predictive value of the genetic score for cardiovascular risk when compared to a single genetic variant worked in isolation (Pereira et al., 2018; Dron et al., 2019).

Several studies have shown the relationship between the *FTO* (Daya et al., 2019; Pettermann et al., 2018), *MTMR9* (Yanagiya et al., 2007) and *MC4R* (Almeida et al., 2018) genes with excess weight. Despite knowing that adipose tissue plays a central role in maintaining lipid homeostasis (Sharifi et al., 2013), we could evidence the relationship between *MTMR9* and the genetic score with higher atherogenic risk, even after adjusting for body fat.

Although the power of this study is > 80%, this work presents a limitation that our sample was not representative, once only the PASE study was composed of a representative sample of the studied age group. However, several strengths need to be highlighted. To our knowledge, this is the first study to evaluate the association of the *MTMR9* gene and genetic score with the dyslipidemia markers in schoolchildren. In addition, we also use non-traditional atherogenic indexes which, according to the literature, have a higher predictive value for cardiovascular risk (Shen et al., 2016).

We conclude that the risk allele of the *MTMR9* gene and the genetic score were positively associated with higher atherogenic risk in Brazilian children. More attention should be given to evaluating risk allele, to understand better the relation between genotype and alterations of the lipid profile even under the age of 10 years-old.

#### **Conflict of interest statement**

The authors declare no conflicts of interest.

#### **Acknowledgments**

We thank BioClin (Belo Horizonte, MG, Brazil) for the lipid profile kits granted, the PASE participants and parents. Our study was supported by *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais* (FAPEMIG - CDS-APQ-02979-16 and 02055-13), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq - 478910/2013-4, 407547/2012-6 and 485124/2011-4), and the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES - code 001). The CNPq, FAPEMIG, and CAPES had no role in the design, analysis or writing of this article.

**REFERENCE**

1. World Health Organization. Noncommunicable Diseases. Available online: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/> (accessed on 18 May 2020).
2. Pöss J, Custodis F, Werner C, Weingärtner O, Böhm M, Laufs U. Cardiovascular disease and dyslipidemia: beyond LDL. *Curr Pharm Des* 17: 861–870, 2011.
3. Brasil. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose - 2017. Sociedade Brasileira de Cardiologia 2017; 109:1-90.
4. Weiss LA, Pan L, Abney M, Ober C. The sex-specific genetic architecture of quantitative traits in humans. *Nat Genet.* 2006;38(2):218-22.
5. Hotta K, Kitamoto T, Kitamoto A, Mizusawa S, Matsuo T, Nakata Y, et al. Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. *Journal of human genetics* 2011; 56(9): 647-651.
6. Kang SH, Han HR, Lee JI, Karmacharya R, Jeon HJ, Roh S. Effects of LEP, LEPR, ADIPOQ, MC4R and FTO polymorphisms on dyslipidemia in Korean patients with schizophrenia who are taking clozapine. *Psychiatry Res.* 2015; 228(1): 177-8.
7. Doney ASF, Dannfald J, Kimber CH, Donnelly LA, Pearson E, Morris AD, et al. The FTO gene is associated with an atherogenic lipid profile and myocardial infarction in patients with type 2 diabetes: A Genetics of Diabetes Audit and Research Study in Tayside Scotland (Go-DARTS) Study. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2009, 2, 255–259.
8. Freathy RM, Timpson NJ, Lawlor DA, Pouta A, Ben-Shlomo Y, Ruukonen A, et al. Common variation in the FTO gene alters diabetes-related metabolic traits to the extent expected given its effect on BMI. *Diabetes* 2008, 57, 1419–1426.
9. Steemburgo T, Azevedo MJ, Gross JL, Milagro FI, Campion J, Martínez JÁ, et al. The rs9939609 polymorphism in the FTO gene is associated with fat and fiber intakes in patients with type 2 diabetes. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics* 2013; 6(2): 97-106.
10. Juhola J, Magnussen CG, Viikari JS, Hutri-Kähönen N, Jula A, Lehtimäki T, et al. Tracking of serum lipid levels, blood pressure, and body mass index from childhood to adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *J Pediatr* 2011; 159: 584-90.
11. Pires A, Sena C, Seíça R. Dyslipidemia and cardiovascular changes in children. *Current Opinion in Cardiology* 2016; 31(1): 95-100.

12. Faludi AA, Izar MC, Saraiva JF, Chacra AP, Bianco HT, Afiune-Neto A, et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. *Arquivos brasileiros de cardiologia* 2017; 109(2): 1-76.
13. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics*. 2011; 128 Suppl 5: S213–56.
14. Viitasalo A, Schnurr TM, Pitkänen N, Hollensted M, Nielsen TRH, Pahkala K. Abdominal adiposity and cardiometabolic risk factors in children and adolescents: a Mendelian randomization analysis. *Am J Clin Nutr* 2019; 00: 1–9.
15. Varda NM, Medved M, Ojsteršek L. The associations between some biological markers, obesity, and cardiovascular risk in Slovenian children and adolescents. *BMC Pediatrics* (2020) 20:81.
16. Shen S, Lu Y, Qi H, Li F, Shen Z, Wu L, et al. Association between ideal cardiovascular health and the atherogenic index of plasma. *Medicine* 2016; 95(24).
17. Guo Q, Zhou S, Feng X, Yang J, Qiao J, Zhao Y, et al. The sensibility of the new blood lipid indicator atherogenic index of plasma (AIP) in menopausal women with coronary artery disease. *Lipids in Health and Disease* (2020) 19:27.
18. Yanagiya T, Tanabe A, Lida A, Saito S, Sekine A, Takahashi A, et al. Association of single-nucleotide polymorphisms in MTMR9 gene with obesity. *Hum. Mol. Genet.* 2007; 16, 3017–3026.
19. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010) Censo cidades. [http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm? 1](http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1) (accessed August 2014).
20. Luiz RR, Magnanini MMF. (2009) O tamanho da amostra em investigações epidemiológicas. In: Medronho RA et al. *Epidemiologia*. 2º ed. São Paulo: Atheneu. 415-429.
21. Filgueiras MS, Vieira AS, Fonseca PCA, Pereira PF, Ribeiro AQ, Priore SE. et al. Waist circumference, waist-to-height ratio and conicity index to evaluate android fat excess in Brazilian children. *Public Health Nutrition* 2019; 22(1): 140-146.
22. Suhett LG, Silveira BKS, Filgueiras MS, Peluzio MCG, Hermsdorff HHM, Novaes JF. Inverse association of calcium intake with abdominal adiposity and C-reactive protein in Brazilian children. *Public Health Nutrition* 2018: 1-9.
23. Vieira-Ribeiro SA, Andreoli CS, Fonseca PCA, Hermsdorff HHM, Pereira PF, Ribeiro AQ, et al. Dietary patterns and body adiposity in children in Brazil: a cross-sectional study. *Public Health* 2019: 140-147.

24. Wu TT, Gao Y, Zheng YY, Ma YT, Xie X. Atherogenic index of plasma (AIP): a novel predictive indicator for the coronary artery disease in postmenopausal women. *Lipids in health and disease* 2018; 17(1): 197.
25. Millán J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés-Prat J, Pallardo LF, et al. Lipoprotein ratios: physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vascular health and risk management* 2009; 5: 757.
26. Dobiášová M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apob-lipoprotein-depleted plasma (FERHDL). *Clinical biochemistry* 2001; 34(7), p.583-8, 2001.
27. Hampe J, Wollstein A, Lu T, Frevel HJ, Will M, Manaster C, Schreiber S. An integrated system for high throughput TaqMan based SNP genotyping. *Bioinformatics* 2001; 17(7): 654-655.
28. American Academy of Pediatrics. Council on Communications and Media Children, adolescents, and the media. *Pediatrics* 2013; 132(5): 958–961.
29. Jelliffe DB. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad. Ginebra: OMS; 1968.
30. Sopher A, Shen W, pietrobelli A. Pediatric body composition methods. In: *Human Body Composition*. Heymsfield SB, Lohman TGL, Wang Z, Going SB. Human Kinetics, 2ª Edição, 2005, 522 p.
31. Zabotto CB, Vianna RPT, Gil MF. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Goiânia: Nepa-Unicamp; 1996.
32. Diet, Pro. "VERSÃO 5. i." Software de avaliação nutricional e prescrição dietética. UFV. Viçosa, MG, Brasil. AS Sistema (1997).
33. Willett W, Stampfer M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: Willett W. *Nutritional epidemiology*. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1998. 514p.
34. Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 2007; 85: 660-7.
35. White, H. A heteroskedasticity-consistent covariance matrix estimator and a direct test for heteroskedasticity. *Econometrica*, 1980, 48, 817–838.
36. Jolfaie N, Rouhani M, Surkan P, Siassi F, Azadbakht L. Rice bran oil decreases total and LDL cholesterol in humans: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Horm Metab Res*. 2016;48(07):417–426.

37. Ghobadi S, Hassanzadeh-Rostami Z, Mohammadian F, Zare M, Faghieh S. Effects of Canola Oil Consumption on Lipid Profile: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. *Journal of the American College of Nutrition* 2018.
38. Leffa PS, Hoffman DJ, Rauber F, Sangalli CN, Valmórbida JL, Vitolo MR. Longitudinal associations between ultra-processed foods and blood lipids in childhood. *Br J Nutr.* 2020 Aug; 124(3): 341-348.
39. Nixon JP, Mavanji V, Butterick TA, Billington CJ, Kotz CM, Teske JA. Sleep disorders, obesity, and aging: the role of orexin. *Ageing Res Rev.* 2015; 20: 63–73
40. Gesteiro E, Sánchez-Muniz FJ, Ortega-Azorín C, Guillén M, Corella D, Bastida S. Maternal and neonatal *FTO* rs9939609 polymorphism affect insulin sensitivity markers and lipoprotein profile at birth in appropriate-for-gestational-age term neonates. *J Physiol Biochem* 2016.
41. Szkup M, Owczarek AJ, Schneider-Matyka D, Brodowski J, Łój B, Grochans E. Associations between the components of metabolic syndrome and the polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (*PPAR-γ*), the fat mass and obesity-associated (*FTO*), and the melanocortin-4 receptor (*MC4R*) genes. *Aging* 2018; 10(1): 72-82.
42. Smith JA, Ware EB, Middha P, Beacher L, Kardia SLR. Current Applications of Genetic Risk Scores to Cardiovascular Outcomes and Subclinical Phenotypes. *Curr Epidemiol Rep* (2015) 2:180–190.
43. Dudbridge F, Pashayan N, Yang J. Predictive accuracy of combined genetic and environmental risk scores. *Genetic Epidemiology* 2017; 42: 4-19.
44. Pereira A, Mendonça MI, Borges S, Souza AC, Freitas S, Henriques E, et al. Additional value of a combined genetic risk score to standard cardiovascular stratification. *Genetics and Molecular Biology*, 41, 4, 766-774 (2018).
45. Dron JS, Hegele RA. The evolution of genetic-based risk scores for lipids and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2019 Apr;30(2):71-81.
46. Daya M, Pujianto DA, Witjaksono F, Priliani L, Susanto J, Lukito W, et al. Obesity risk and preference for high dietary fat intake are determined by *FTO* rs9939609 gene polymorphism in selected Indonesian adults. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2019; 28(1):183-191.
47. Pettermann F, Villagran M, Troncoso C, Mardones L, Leiva AN, Martínez MA, et al. Asociación entre el polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* y marcadores de adiposidad em población adulta chilena. *Revista médica de Chile* 2018; 146 : 717 – 726.

48. Almeida SM, Furtado JM, Mascarenhas P, Ferraz ME, Ferreira JC, Monteiro MP, et al. Association between LEPR, FTO, MC4R, and PPARG-2 polymorphisms with obesity traits and metabolic phenotypes in school-aged children. *Endocrine* (2018) 60:466–478.
49. Sharifi S, Daghighi S, Motazacker MM, Badlou B, Sanjabi B, Akbarkhanzadeh A, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles alter expression of obesity and T2D-associated risk genes in human adipocytes. *Scientific Reports*, 2013.

Table 1. Dyslipidemia markers by sociodemographic, anthropometric, body composition and lifestyle characteristics in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Characteristics	N	Total cholesterol (mg/dL)		HDL-c (mg/dL)		LDL-c (mg/dL)		Triglyceride (mg/dL)		Non-HDL-c (mg/dL)	
		Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value
Sex											
Female	265	157.82 ± 27.08	0.37	49.74 ± 10.26	0.55	91.11 ± 24.06	0.23	70.56 ± 28.94	0.09	107.69 ± 25.23	0.22
Male	279	155.73 ± 27.30		50.28 ± 10.94		93.59 ± 23.66		75.21 ± 34.18		105.45 ± 25.00	
Height-for-age (Z-score)											
-1 to < 0	186	157.80 ± 26.28	0.28	49.47 ± 10.48	0.63	94.13 ± 22.51	0.02*	70.05 ± 27.83	0.08	107.75 ± 24.69	0.05
0 to 1	206	157.50 ± 29.12		50.34 ± 10.48		93.09 ± 25.77		71.48 ± 32.17		107.16 ± 26.97	
> 1	152	154.65 ± 25.55		50.20 ± 10.92		89.29 ± 22.55		78.44 ± 35.14		104.44 ± 23.00	
BMI-for-age (Z-score)											
< -2	81	156.34 ± 32.10	0.38	48.34 ± 9.75	0.01*	95.97 ± 29.27	0.74	69.60 ± 27.94	<0.0001*	108.00 ± 30.11	0.63
-2 to 1	306	157.72 ± 26.30		51.30 ± 10.96		91.87 ± 22.66		67.87 ± 25.73		106.07 ± 23.78	
1 to 2	97	157.31 ± 25.32		49.78 ± 10.57		92.90 ± 23.16		79.37 ± 37.96		107.53 ± 24.53	
> 2	60	151.93 ± 27.46		46.00 ± 8.47		89.28 ± 22.71		92.85 ± 43.00		105.93 ± 25.91	
% Body fat (terciles)											
≤ 15.7	178	153.65 ± 27.93	0.89	49.48 ± 10.35	0.04*	90.86 ± 25.72	0.81	67.28 ± 26.84	<0.0001*	104.17 ± 25.86	0.52
15.7 to 24.4	175	158.95 ± 27.24		51.78 ± 10.81		93.19 ± 23.76		67.62 ± 25.30		107.16 ± 24.31	
> 24.4	191	157.78 ± 26.28		48.85 ± 10.44		93.05 ± 22.11		83.14 ± 38.37		108.35 ± 25.12	
Screen time (hours/day) <sup>1</sup>											
≤ 2	241	155.36 ± 25.38	0.07	49.37 ± 9.74	0.26	91.60 ± 23.12	0.12	72.55 ± 33.12	0.75	105.54 ± 24.27	0.14
> 2	303	157.95 ± 28.5		50.50 ± 11.21		93.00 ± 24.43		73.25 ± 30.74		107.44 ± 25.79	
Per capita income (US\$) <sup>†</sup>											
< 90.1 (1 <sup>o</sup> tercile)	182	157.33 ± 25.19	0.09	49.33 ± 11.12	0.38	92.69 ± 21.94	0.02*	67.74 ± 30.60	0.004*	108.00 ± 23.13	0.11
90.1 to 157.8 (2 <sup>o</sup> tercile)	181	154.88 ± 27.11		49.29 ± 9.93		90.57 ± 25.37		75.13 ± 33.24		105.59 ± 25.66	
> 157.8 (3 <sup>o</sup> tercile)	181	158.29 ± 28.98		51.35 ± 10.67		93.94 ± 23.93		75.45 ± 30.92		106.36 ± 26.37	
Maternal education (years)											
≤ 4	66	153.75 ± 24.36	0.01*	50.37 ± 9.60	0.96	86.20 ± 20.85	<0.0001*	69.83 ± 31.29	0.02*	103.37 ± 20.98	<0.0001*
5 to 10	168	153.10 ± 25.59		49.51 ± 10.10		88.81 ± 23.04		71.32 ± 34.88		103.58 ± 24.21	
11	210	157.89 ± 28.33		49.86 ± 11.63		94.66 ± 24.28		72.40 ± 28.65		108.02 ± 25.12	
≥ 12	98	163.14 ± 28.07		50.78 ± 9.50		98.02 ± 24.77		79.67 ± 32.56		111.21 ± 28.51	

Abbreviations SD: Standard Deviation; BMI: body mass index; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: low-density lipoprotein.

Linear regression models with dyslipidemia markers as the continuous outcome. For variables with three or more categories, P-value was from Wald test for linear trend representing ordinal categories as continuous. Robust variance estimations were specified in all models.

<sup>†</sup>Approximate exchange rates of real (R\$) to dollar (US\$) at the time of this study (US\$1.00 = R\$ 3.33).

\*P<0.05

Continuation. Dyslipidemia markers by sociodemographic, anthropometric, body composition and lifestyle characteristics in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Characteristics	N	TC/HDL-c		LDL-c/HDL-c		AC		LCI		AIP	
		Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value	Mean ± SD	P value
Sex											
Female	265	3.5 ± 0.68	0.29	1.89 ± 0.62	0.27	2.25 ± 0.68	0.29	25.01 ± 17.59	0.10	0.15 ± 0.21	0.15
Male	279	3.19 ± 0.70		1.95 ± 0.61		2.19 ± 0.70		22.37 ± 17.59		0.12 ± 0.21	
Height-for-age (Z-score)											
-1 to < 0	186	3.28 ± 0.70	0.06	1.97 ± 0.60	0.02*	2.28 ± 0.70	0.06	23.28 ± 16.74	0.54	0.12 ± 0.21	0.23
0 to 1	206	3.21 ± 0.72		1.92 ± 0.65		2.21 ± 0.72		23.98 ± 21.22		0.12 ± 0.20	
> 1	152	3.16 ± 0.64		1.85 ± 0.58		2.16 ± 0.64		23.92 ± 18.01		0.16 ± 0.22	
BMI-for-age (Z-score)											
< -2	81	3.31 ± 0.77	0.02*	2.05 ± 0.71	0.13	2.31 ± 0.77	0.02*	24.81 ± 22.64	0.002*	0.13 ± 0.20	<0.0001*
-2 to 1	306	3.16 ± 0.67		1.86 ± 0.59		2.21 ± 0.67		21.28 ± 14.90		0.10 ± 0.20	
> 1 to 2	97	3.25 ± 0.67		1.94 ± 0.59		2.25 ± 0.67		26.33 ± 22.43		0.17 ± 0.21	
> 2	60	3.37 ± 0.68		2.00 ± 0.61		2.37 ± 0.68		30.49 ± 22.84		0.26 ± 0.22	
% Body fat (terciles)											
≤ 15.7	178	3.20 ± 0.75	0.11	1.91 ± 0.68	0.37	2.20 ± 0.75	0.11	21.58 ± 19.36	0.001*	0.11 ± 0.20	<0.0001*
15.7 to 24.4	175	3.15 ± 0.63		1.86 ± 0.57		2.15 ± 0.63		21.38 ± 14.10		0.09 ± 0.19	
> 24.4	191	3.31 ± 0.67		1.97 ± 0.58		2.31 ± 0.67		27.89 ± 21.44		0.20 ± 0.22	
Screen time (hours/day) <sup>1</sup>											
≤ 2	241	3.22 ± 0.67	0.83	1.92 ± 0.60	0.80	2.22 ± 0.67	0.83	23.18 ± 18.14	0.37	0.13 ± 0.21	0.98
> 2	303	3.22 ± 0.71		1.91 ± 0.63		2.22 ± 0.71		24.16 ± 19.44		0.13 ± 0.22	
Per capita income (US\$) <sup>†</sup>											
< 90.1 (1° tercile)	182	3.30 ± 0.75	0.82	1.97 ± 0.66	0.35	2.30 ± 0.75	0.82	22.75 ± 19.73	0.03*	0.11 ± 0.21	0.01*
90.1 to 157.8 (2° tercile)	181	3.22 ± 0.69		1.90 ± 0.62		2.22 ± 0.69		23.84 ± 19.23		0.15 ± 0.20	
> 157.8 (3° tercile)	181	3.15 ± 0.63		1.89 ± 0.57		2.15 ± 0.63		24.49 ± 17.70		0.14 ± 0.21	
Maternal education (years)											
≤ 4	66	3.11 ± 0.52	0.01*	1.75 ± 0.46	<0.0001*	2.11 ± 0.52	0.01*	19.38 ± 12.83	0.003*	0.11 ± 0.22	0.01*
5 to 10	168	3.18 ± 0.69		1.86 ± 0.62		2.18 ± 0.69		22.46 ± 20.90		0.12 ± 0.21	
11	210	3.27 ± 0.72		1.98 ± 0.64		2.27 ± 0.72		23.98 ± 16.79		0.14 ± 0.21	
≥ 12	98	3.29 ± 0.71		1.99 ± 0.64		2.29 ± 0.71		28.59 ± 21.92		0.17 ± 0.19	

Abbreviations SD: Standard Deviation; BMI: body mass index; TC: Total cholesterol; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: low-density lipoprotein; AC: atherosclerosis coefficient; LCI: lipoprotein combined index; AIP: atherogenic index of plasma.

Linear regression models with dyslipidemia markers as the continuous outcome. For variables with three or more categories, P-value was from Wald test for linear trend representing ordinal categories as continuous. Robust variance estimations were specified in all models.

<sup>†</sup>Approximate exchange rates of real (R\$) to dollar (US\$) at the time of this study (US\$1.00 = R\$ 3.33). \*P<0.05

Table 2. Association between the risk allele of the *FTO* gene and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Cardiometabolic risk factors	Unadjusted beta coefficient (95% CI) <sup>1</sup>			Adjusted beta coefficient (95% CI) <sup>2</sup>		
	<i>FTO</i> gene			<i>FTO</i> gene		
	TT	TA/AA	<i>P</i> value	TT	TA/AA	<i>P</i> value
Total cholesterol (mg/dL)	Reference	0.75 (-4.02, 5.53)	0.76	Reference	0.04 (-4.76, 4.85)	0.99
Triglyceride (mg/dL)	Reference	-4.14 (-10.35, 2.07)	0.19	Reference	-3.32 (-9.19, 2.54)	0.27
HDL-c (mg/dL)	Reference	-0.64 (-2.56, 1.28)	0.51	Reference	-1.01 (-2.94, 0.91)	0.30
LDL-c (mg/dL)	Reference	1.29 (-2.81, 5.40)	0.54	Reference	0.90 (-3.19, 5.01)	0.66
Non-HDL-c (mg/dL)	Reference	1.09 (-3.25, 5.45)	0.62	Reference	0.65 (-3.73, 5.04)	0.77
TC/HDL-c	Reference	0.05 (-0.06, 0.18)	0.35	Reference	0.06 (-0.05, 0.18)	0.27
LDL-c/HDL-c	Reference	0.05 (-0.05, 0.16)	0.35	Reference	0.05 (-0.05, 0.16)	0.29
AC	Reference	0.05 (-0.06, 0.18)	0.34	Reference	0.06 (-0.05, 0.19)	0.27
LCI	Reference	-0.23 (-3.69, 3.21)	0.89	Reference	0.15 (-3.12, 3.42)	0.93
AIP	Reference	0.00 (-0.05, 0.03)	0.63	Reference	0.00 (-0.04, 0.03)	0.95

Abbreviations 95%CI: 95% Confidence Interval; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: low-density lipoprotein; TG: Triglyceride; AC: atherosclerosis coefficient; LCI: lipoprotein combined index; AIP: atherogenic index of plasma; TT: individuals without polymorphism; AT: heterozygous individuals with a risk allele; AA: individuals with polymorphism in the *FTO* gene.

<sup>1</sup> From a linear regression model with dyslipidemia markers as a continuous outcome and *FTO* gene categories as predictor. Robust estimates of variance were specified in all models.

<sup>2</sup> From linear regression adjusted by sex, age, screen time, per capita income, maternal education, total energy intake and % body fat.

Table 3. Association between the risk allele of the *MC4R* gene and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Cardiometabolic risk factors	Unadjusted beta coefficient (95% CI) <sup>1</sup>			Adjusted beta coefficient (95% CI) <sup>2</sup>		
	<i>MC4R</i> gene			<i>MC4R</i> gene		
	TT	TC/CC	<i>P</i> value	TT	TC/CC	<i>P</i> value
Total cholesterol (mg/dL)	Reference	0.51 (-4.09, 5.11)	0.83	Reference	1.68 (-3.11, 6.48)	0.49
Triglyceride (mg/dL)	Reference	-0.32 (-5.96, 5.32)	0.91	Reference	0.57 (-5.08, 6.23)	0.84
HDL-c (mg/dL)	Reference	0.89 (-1.01, 2.79)	0.36	Reference	0.83 (-1.10, 2.77)	0.40
LDL-c (mg/dL)	Reference	-1.37 (-5.42, 2.67)	0.51	Reference	0.03 (-4.09, 4.17)	0.99
Non-HDL-c (mg/dL)	Reference	-0.05 (-4.36, 4.24)	0.98	Reference	1.05 (-3.44, 5.55)	0.65
TC/HDL-c	Reference	0.00 (-0.12, 0.12)	0.99	Reference	0.02 (-0.10, 0.16)	0.67
LDL-c/HDL-c	Reference	-0.02 (-0.13, 0.08)	0.70	Reference	0.01 (-0.10, 0.12)	0.85
AC	Reference	0.00 (-0.12, 0.12)	0.99	Reference	0.02 (-0.10, 0.16)	0.67
LCI	Reference	0.53 (-2.88, 3.95)	0.76	Reference	1.56 (-2.12, 5.25)	0.41
AIP	Reference	-0.01 (-0.04, 0.02)	0.66	Reference	0.00 (-0.04, 0.03)	0.78

Abbreviations 95%CI: 95% Confidence Interval; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: low-density lipoprotein; TG: Triglyceride; AC: atherosclerosis coefficient; LCI: lipoprotein combined index; AIP: atherogenic index of plasma, TT: individuals without polymorphism; TC: heterozygous individuals with a risk allele; CC: individuals with polymorphism in the *MC4R* gene.

<sup>1</sup>From a linear regression model with dyslipidemia markers as continuous outcome and *MC4R* gene categories as predictor. Robust estimates of variance were specified in all models.

<sup>2</sup>From linear regression adjusted by sex, age, screen time, per capita income, maternal education, total energy intake and % body fat.

Table 4. Association between the risk allele of the *MTMR9* gene and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Cardiometabolic risk factors	Unadjusted beta coefficient (95% CI) <sup>1</sup>			Adjusted beta coefficient (95% CI) <sup>2</sup>		
	GG	<i>MTMR9</i> gene		GG	<i>MTMR9</i> gene	
		GA/AA	<i>P</i> value		GA/AA	<i>P</i> value
Total cholesterol (mg/dL)	Reference	1.21 (-3.63, 6.05)	0.62	Reference	1.33 (3.60, 6.27)	0.60
Triglyceride (mg/dL)	Reference	1.57 (-3.68, 6.83)	0.56	Reference	2.53 (-2.72, 7.80)	0.34
HDL-c (mg/dL)	Reference	-1.41 (-2.74, -0.08)	0.04*	Reference	-1.75 (-3.12, -0.38)	0.01*
LDL-c (mg/dL)	Reference	2.40 (-2.04, 6.85)	0.29	Reference	2.76 (-1.69, 7.22)	0.22
Non-HDL-c (mg/dL)	Reference	2.74 (-2.13, 7.62)	0.27	Reference	3.12 (-1.77, 8.02)	0.21
TC/HDL-c	Reference	0.12 (-0.01, 0.26)	0.08	Reference	0.15 (0.01, 0.29)	0.03*
LDL-c/HDL-c	Reference	0.11 (-0.01, 0.23)	0.08	Reference	0.13 (0.01, 0.25)	0.03*
AC	Reference	0.12 (-0.01, 0.26)	0.08	Reference	0.15 (0.01, 0.29)	0.03*
LCI	Reference	3.60 (-0.66, 7.87)	0.10	Reference	4.21 (-0.01, 8.57)	0.05
AIP	Reference	0.02 (-0.01, 0.05)	0.19	Reference	0.02 (-0.01, 0.05)	0.10

Abbreviations 95%CI: 95% Confidence Interval; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: low-density lipoprotein; TG: Triglyceride; AC: atherosclerosis coefficient; LCI: lipoprotein combined index; AIP: atherogenic index of plasma; GG: individuals without polymorphism; AG: heterozygous individuals with a risk allele; AA: individuals with polymorphism in the *MTMR9* gene.

<sup>1</sup>From a linear regression model with dyslipidemia markers as continuous outcome and *MTMR9* gene as categorical predictor. Robust estimates of variance were specified in all models.

<sup>2</sup>From linear regression adjusted by sex, age, screen time, per capita income, maternal education, total energy intake and % body fat.

\**P* value <0.05

Table 5. Association between the risk allele of the genetic score and the markers of dyslipidemia in children from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Cardiometabolic risk factors	Unadjusted beta coefficient (95% CI) <sup>1</sup>			Adjusted beta coefficient (95% CI) <sup>2</sup>		
	Genetic score			Genetic score		
	0	≥1	<i>P</i> value	0	≥1	<i>P</i> value
Total cholesterol (mg/dL)	Reference	-0.90 (-6.25, 4.44)	0.74	Reference	-0.07 (-5.42, 5.26)	0.98
Triglyceride (mg/dL)	Reference	3.18 (-2.99, 9.36)	0.31	Reference	4.50 (-1.50, 10.52)	0.14
HDL-c (mg/dL)	Reference	-2.10 (-4.06, -0.14)	0.04*	Reference	-2.11 (-4.08, -0.14)	0.04*
LDL-c (mg/dL)	Reference	-0.45 (-5.23, 4.31)	0.85	Reference	0.29 (-4.33, 4.92)	0.90
Non-HDL-c (mg/dL)	Reference	1.47 (-3.67, 6.62)	0.58	Reference	2.20 (-2.85, 7.27)	0.39
TC/HDL-c	Reference	0.15 (0.001, 0.29)	0.04*	Reference	0.16 (0.02, 0.31)	0.02*
LDL-c/HDL-c	Reference	0.09 (-0.03, 0.23)	0.13	Reference	0.11 (-0.01, 0.24)	0.07
AC	Reference	0.15 (0.002, 0.29)	0.04*	Reference	0.16 (0.02, 0.31)	0.02*
LCI	Reference	3.61 (-0.43, 7.65)	0.08	Reference	4.36 (0.3, 8.36)	0.03*
AIP	Reference	0.03 (0.00, 0.07)	0.07	Reference	0.04 (0.004, 0.08)	0.03*

Abbreviations 95%CI: 95% Confidence Interval; HDL-c: high-density lipoprotein; LDL-c: low-density lipoprotein; TG: Triglyceride; AC: atherosclerosis coefficient; LCI: lipoprotein combined index; AIP: atherogenic index of plasma;

<sup>1</sup>From a linear regression model with dyslipidemia markers as continuous outcome and genetic score categories as predictor. Robust estimates of variance were specified in all models.

<sup>2</sup>From linear regression adjusted by sex, age, screen time, per capita income, maternal education, total energy intake and % body fat.

\**P* value <0.05

## 6.2 Artigo Original 2 – Short communication

### ***FTO* rs9939609 polymorphism gene and the genetic score are associated with most pro-inflammatory diet in Brazilian schoolchildren**

#### **ABSTRACT**

**Objective:** To evaluate the association of *FTO*, *MC4R*, *MTMR9* genes, and the genetic score calculation with the inflammatory profile of the diet of Brazilian children.

**Methods:** This is a cross-sectional study with 292 children aged 8 to 9 in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. We assessed food intake using by an average of three 24-hour recalls and calculated the Children Dietary Inflammatory Index (C-DII). *FTO*, *MC4R*, *MTMR9* gene polymorphism were evaluated and the genetic score was calculated. We compared the distribution of C-DII by genotype categories from multiple linear regression.

**Results:** Individuals with TA/AA genotypes in the gene *FTO* had a higher C-DII (0.27, 95% CI: 0.04, 0.49), after adjustment. Children who had one or more polymorphisms were positively associated with C-DII (0.27, 95% CI: 0.03, 0.51).

**Conclusion:** The risk allele of the *FTO* gene and higher genetic score were positively associated with C-DII in Brazilian children.

**Keywords:** children, diet, inflammation, polymorphism genetic.

## INTRODUCTION

Inflammation can have both genetic and environmental causes. A study identified that carriers of polymorphisms in the *MC4R* gene are more susceptible to inflammation (Kreutzer et al., 2017). Since diet is considered one of the most important factors in the development of this pathology, it is believed that genetic polymorphisms contribute directly to this process, through the selection of food preferences and indirectly, with the development of obesity. The *FTO*, *MC4R* and *MTMR9* genes have been associated with being overweight and this stands out as an important risk factor for inflammation (Tanabe et al., 2007; Daya et al., 2019).

In this context, the Children's Dietary Inflammatory Index (C-DII) emerges as a proposal to assess the inflammatory potential of a children's diet based on the anti and pro-inflammatory properties of some specific foods and nutrients (Khan et al., 2018). However, no study has been published in the literature that evaluated the association between polymorphisms in the *FTO*, *MC4R*, and *MTMR9* gene with the inflammatory profile of the diet in Brazilian children, assessed by the C-DII. Therefore, the objective of this study was to evaluate the association of the *FTO*, *MC4R*, *MTMR9* genes risk allele and their genetic score with the inflammatory profile of the diet in Brazilian children. We hypothesize is that this association is evident in the early stages of life.

## METHODS

This is a cross-sectional study conducted in 2015 with 292 children aged 8 and 9, enrolled in public and private schools in the urban area of Viçosa, Minas Gerais, Brazil. This study's participants were from the Schoolchildren Health Assessment Survey (PASE, in Portuguese), as previously described (Filgueiras et al., 2019). These children were again evaluated in 2018, and genetic material was collected through an oral *swab*.

The power of the study was calculated by adopting the means and standard deviations of the C-DII in the group without the risk allele of the *FTO* gene (TT/AT) ( $0.54 \pm 0.95$ ) and with the risk allele (AA) ( $0.76 \pm 0.90$ ), and for statistical significance level of 5%, the study had power equal to >80%. For this calculation we used the OpenEpi *software*.

This study was developed according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee in Research with Human Beings of the Federal University of Viçosa (UFV) (case n° 663.171/2014 and n° 2.832.590/2018). All guardians of the children signed the Informed Consent Form.

### ***Children's Dietary Inflammatory Index (C-DII)***

Food consumption was assessed by the average of three 24-hour recalls (R24h) on non-consecutive days, being one referring to the weekend. To help participants determine the size of the portions ingested, homemade utensils and portioning figures of some foods were used in photo album.

The index is calculated using the study's database and a representative global bank, which provides a global estimate of the mean and standard deviation of each parameter used in C-IID.

A z-score was created for each parameter, subtracting the "standard average" from the reported value and dividing this value by the global standard deviation. The z-score was then converted into proportions to minimize the effect of "right skewing". The result was centered at zero (null) and limited between -1 (maximum anti-inflammatory) and +1 (maximum pro-inflammatory), doubling each proportion and subtracting 1. Then, this proportion score was multiplied by the respective effect score of the food parameter, derived from the literature review, in order to obtain the IID-I of each food parameter for an individual. Finally, all the scores of the food parameters were added, obtaining the general C-IID of each child.

The C-IID was adjusted for 1.000 Kcal consumed, in order to take into account the difference in the individuals' energy intake. Of the 25 possible dietary parameters used to calculate C-IID scores (Khan et al., 2018), the present project used 16, as follows: carbohydrate, protein, total fat, saturated fat, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, fiber, iron, zinc, magnesium, vitamins B1, B2, B3, B6, C and D. A higher C-IID score indicates a pro-inflammatory diet.

### ***Genotyping***

The genetic material was collected using the oral swab. For DNA extraction, the SYBR Green Extract -N- Amp Tissue Kit (Sigma®) kit was used. Polymerase chain methodology was used in real-time (PCR), TaqMan™ SNP Genotyping Assays, to discriminate the alleles, typifying the genetic material sample to the SNP

studied. The Taq-Man™ SNP *Genotyping methodology* was based on using a pre-designed assay and validated by the company *Applied Biosystems* (ABI) (catalog number: 4351379).

The same genetic material was used in all the plates for the repetitions, plus the positive control, to indicate any possible typing error and white reaction controls, containing autoclaved bidistilled water instead of DNA, called by the NTC programs (*No Template Control*).

The programs used to design the plates and visualize the results were SDS v2.4 *software* and TaqMan™ *genotyping software*, respectively, all developed by the company *Applied Biosystems*. The commercial classifications of the TaqMan™ SNP Genotyping methodology test used by ABI specific for the study of the *FTO* locus is C\_30090620\_10, locus *MC4R* is C\_32667060\_10 and locus *MTMR9* is C\_16185294\_10.

The genetic risk score was calculated using the information from the genotype of the 298 individuals, according to the allelic composition of the three genes. The genotypes were coded zero, 1, 2 and 3, creating a risk score, adding the numbers of genotypes of each study participant. Thus, received a score zero the individual who presented no risk genotype (TT, TT, GG); 1 the individual who presented polymorphism in the *FTO* or *MC4R* or *MTMR9* gene; 2 the individual who presented the polymorphism of two genes and, 3 the individuals who presented all polymorphisms.

### ***Data analyses***

**Exposures.** Genotypes (*FTO*, *MC4R*, *MTMR9*, and genetic score) as categorical variables.

**Outcome.** The C-DII as a continuous variable.

**Covariates.** Sociodemographic (child's sex, age, per capita income), screen time, and % body fat assessed by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) (Lunar Prodigy Advance, GE Medical Systems Lunar, Milwaukee, WI, USA).

**Statistical analyses.** We compared the distributions of outcome (C-DII) by genotype categories using mean differences and 95% confidence intervals (CI) from multivariable linear regression models adjusted by sex, age, screen time, per capita income, and body fat.

Robust estimates of the variance were specified in all models which are consistent to heteroskedasticity and other violations of normality (White, 1980). Analyses were carried out in the Statistical Package for the Social Sciences® version 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and Stata® version 14 (StataCorp LP, College Station, TX, USA). The significance level was set at 5% for all hypothesis tests.

The Hardy-Weinberg balance was assessed by the chi-square test, checking the balance in the genotypic frequencies of the *FTO*, *MC4R* and *MTMR9* genes.

## RESULTS

Mean  $\pm$  SD age of participants was  $8.5 \pm 0.5$  years; 55.4% were girls, and 31.8% were overweight/obese. Mean  $\pm$  SD of inflammatory diet index was  $0.6 \pm 0.9$ , and the prevalence of the polymorphism of genes *FTO*, *MC4R*, and *MTMR9* were 17.5%, 4.8% and, 10.1%, respectively. Children with over one polymorphism were 2.4%. The C-DII scores ranged from -2.16 (anti-inflammatory) to 2.70 (pro-inflammatory).

In multivariable analyses, the risk allele of the *FTO* gene and genetic scores were positively associated with the C-DII. Compared with children without risk allele, the other with TA/AA genotype was related to 0.27 (95% CI: 0.04, 0.49) unit higher in C-DII. Children with  $\geq 1$  genetic polymorphisms score had 0.27 (95% CI: 0.03, 0.51) unit higher in C-DII than children without genetic polymorphism (Figure 1).

However, we did not find associations of the risk allele of the *MC4R* and *MTMR9* genes with the C-DII in our children.

## DISCUSSION

In this cross-sectional study with Brazilian children, we supported the hypothesis that the *FTO* gene and higher genetic score were positively associated with C-DII. More attention should be given to evaluating polymorphism genetic, even at a young age, to better understand the relation between genotype, inflammatory diet and disease.

It is believed that the relationship between the risk allele in *FTO* and C-DII occurs due to the association of the gene with changes in food preferences (Fischer et al., 2009). Individuals with the *FTO* polymorphism had a greater preference for fat intake (Daya et al., 2019), carbohydrates (Martins et al., 2018), total energy

consumption (Ranzenhofer et al., 2019) and ultra-processed products (Martins et al., 2018) when compared to those without polymorphism. It is known that all these foods and nutrients can favor a pro-inflammatory diet (Veronese et al., 2018). Despite the lack of studies evaluating an association between *FTO* and C-DII, some studies demonstrate a relationship between the gene and alteration of inflammatory markers (Timpson et al., 2011) and shorter telomeres length, an important inflammatory marker (Zhou et al., 2017) in adults.

On the other hand, if the gene can alter the intake of a nutrient, it was detected that the composition of the diet affected the expression of the *FTO* gene. Studies have found that increased consumption of carbohydrates and proteins increased gene expression (Doaei et al., 2019) and in individuals on a high-fat diet, there was an association between the *FTO* gene and increased BMI (Sonestedt et al., 2009). This result, found only in individuals with high fat consumption, would be justified by the increased expression of the *FTO* gene in fat cells (Nowacka-Woszuik et al., 2017). Although it is not possible to extrapolate a causal relationship in our study, we highlight the evidence that the type of gene is associated with the inflammatory diet and suggest the need for further longitudinal studies to assess whether this diet can alter the expression of the *FTO* gene.

Although we did not find an isolated association between the *MC4R* gene and the C-DII, contrary to the study by Yarizadeh et al. (2021), who showed the interaction of the gene with the pro-inflammatory diet, we found a positive association between the genetic score and the C-DII. In another study, the BMI of individuals who simultaneously presented the risk allele for the *FTO* and *MC4R* genes was higher than the individuals who presented the risk allele for only one of them (Huang et al., 2011). Still, a cohort study with French children found that the simultaneous presence of the risk allele in the *FTO* and *MC4R* genes, increased the likelihood of developing childhood obesity three times, when compared from homogeneous individuals, with no risk allele for both genes (Cauchi et al., 2009). Although there are no studies in the literature that evaluated the interaction of the polymorphism of three genes, *FTO*, *MC4R*, and *MTMR9*, it is known that genetic scores are being characterized as a useful tool since they increase the risk prediction; also, the only single variant genetics worked in isolation, explains a small proportion of the risk variation. Therefore, it is important to emphasize that we are formed by the interaction of several genes and not by a single specific gene (Dudbridge et al., 2017). All of these results reinforce the

importance of considering the relationship between the genotype of individuals and food consumption, in the assessment of diseases.

Although the power of this study is > 80%, this work presents a limitation that our sample was not representative and, we calculated the C-DII score with 16 of the total 25 food parameters included in the C-DII definition. Nevertheless, our C-DII score was similar to previous pediatric study (Navarro et al., 2019) and there are several strengths to our study that should be considered. To our knowledge, this is the first study conducted in a developing country to describe the association between polymorphism genetic and C-DII in schoolchildren. Second, we adjusted the confounding variables in the statistical analysis, including body fat, evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry, a gold standard method.

We concluded that risk allele of the *FTO* gene and higher genetic score were positively associated with C-DII in Brazilian children. Given the link between genotype and inflammatory diet, further clinical and longitudinal studies need to explore the effect of these in children with cardiometabolic risk, in which inflammatory conditions are associated, even at age under 10 years-old.

#### **Conflict of interest statement**

The authors declare no conflicts of interest.

#### **Acknowledgments**

We thank the PASE participants and parents. Our study was supported by *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais* (FAPEMIG - CDS-APQ-02979-16), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq - 407547/2012-6 and 478910/2013-4), and the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES - code 001). The CNPq, FAPEMIG, and CAPES had no role in the design, analysis or writing of this article.

**REFERÊNCIAS**

1. Kreutzer C, Peters S, Schulte DM, Fangmann D, Türk K, Wolff S, et al. Hypothalamic inflammation in human obesity is mediated by environmental and genetic factors. *Diabetes* 2017;db170067.
2. Tanabe A, Yanagiya T, Lida A, Saito S, Sekine A, Takahashi A, et al. Functional SNPs in the secretogranin III (SCG3) gene that forms secretory granules with appetite-related neuropeptides are associated with obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92, 1145– 1154.
3. Daya M, Pujianto DA, Witjaksono F, Priliani L, Susanto J, Lukito W, et al. Obesity risk and preference for high dietary fat intake are determined by FTO rs9939609 gene polymorphism in selected Indonesian adults. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2019; 28(1):183-191.
4. Khan, S., M. Wirth, A. Ortaglia, C. Alvarado, N. Shivappa, T. Hurley, and J. Hebert. Design, development and construct validation of the children’s dietary inflammatory index. *Nutrients* 2018; 10 (8):993.
5. Filgueiras MS, Vieira AS, Fonseca PCA, Pereira PF, Ribeiro AQ, Priore SE. et al. Waist circumference, waist-to-height ratio and conicity index to evaluate android fat excess in Brazilian children. *Public Health Nutrition* 2019; 22(1): 140-146.
6. White, H. A heteroskedasticity-consistent covariance matrix estimator and a direct test for heteroskedasticity. *Econometrica*, 1980, 48, 817–838.
7. Fischer J, Koch L, Emmerling C, et al. Inactivation of the Fto gene protects from obesity. *Nature.* 2009;458 (7240):894–898.
8. Martins MC, et al. Associations between obesity candidate gene polymorphisms (fat mass and obesity-associated (FTO), melanocortin-4 receptor (MC4R), leptin (LEP) and leptin receptor (LEPR)) and dietary intake in pregnant women. *British Journal of Nutrition* 2018; 120: 454–463.
9. Ranzenhofer LM, Mayer LES, Davis HA, Mielki-Maday HK, McInerney H, Korn R, et al. The FTO Gene and Measured Food Intake in 5- to 10-Year-Old Children Without Obesity. *Obesity.* 2019; 27: 1023-1029.
10. Veronese N, Stubbs B, Koyanagi A, Hebert JR, Cooper C, Caruso MG, et al. Pro-inflammatory dietary pattern is associated with fractures in women: an eight years longitudinal cohort study. *Osteoporos Int.* 2018; 29(1): 143–151.
11. Timpson NJ, Nordestgaard BG, Harbord RM, Zacho J, Frayling TM, Tybjaerg-Hansen A, Smith GD. C-reactive protein levels and body mass index: elucidating direction of causation through reciprocal Mendelian randomization. *Int J Obes.* 2011; 35: 300–308.

12. Zhou Y, Hambly BD, McLachlan CS. FTO associations with obesity and telomere length. *Journal of Biomedical Science*. 2017; 24(65).
13. Doaei S, Kalantari N, Izadi P, Salonurmi T, Jarrahi AM, Rafieifar S, et al. Interactions between macro-nutrients' intake, FTO and IRX3 gene expression, and FTO genotype in obese and overweight male adolescents. *Adipocyte* 2019; 8(1).
14. Sonestedt E, Roos C, Gullberg B, et al. Fat and carbohydrate intake modify the association between genetic variation in the FTO genotype and obesity. *Am J Clin Nutr*. 2009; 90(5):1418–1425.
15. Nowacka-Woszek J, Pruszyńska-Oszmerek E, Szydlowski M, et al. Nutrition modulates Fto and Irx3 gene transcript levels, but does not alter their DNA methylation profiles in rat white adipose tissues. *Gene*. 2017; 610: 44–48.
16. Yarizadeh H, Mirzababaei A, Ghodoosi N, Pooyan S, Djafarian K, Clark CCT, et al. The interaction between the dietary inflammatory index and MC4R gene variants on cardiovascular risk factors. *Clinical Nutrition* 2020.
17. Huang W, Sun Y, Sun J. Combined effects of FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 on obesity and BMI in Chinese Han populations. *Endocrinology* 2011; 39, 69-74.
18. Cauchi S et al. Combined effects of MC4R and FTO common genetic variants on obesity in European general populations. *Journal of Molecular Medicine* 2009, 87(5): 537-546.
19. Dudbridge F, Pashayan N, Yang J. Predictive accuracy of combined genetic and environmental risk scores. *Genetic Epidemiology* 2017; 42: 4-19.
20. Navarro P, Shivappa N, Hébert JR, Mehegan J, Murrin CM, Kelleher CC, Phillips CM. Predictors of the dietary inflammatory index in children and associations with childhood weight status: A longitudinal analysis in the Lifeways Cross-Generation Cohort Study. *Clinical Nutrition*. 2019 Sep 19.

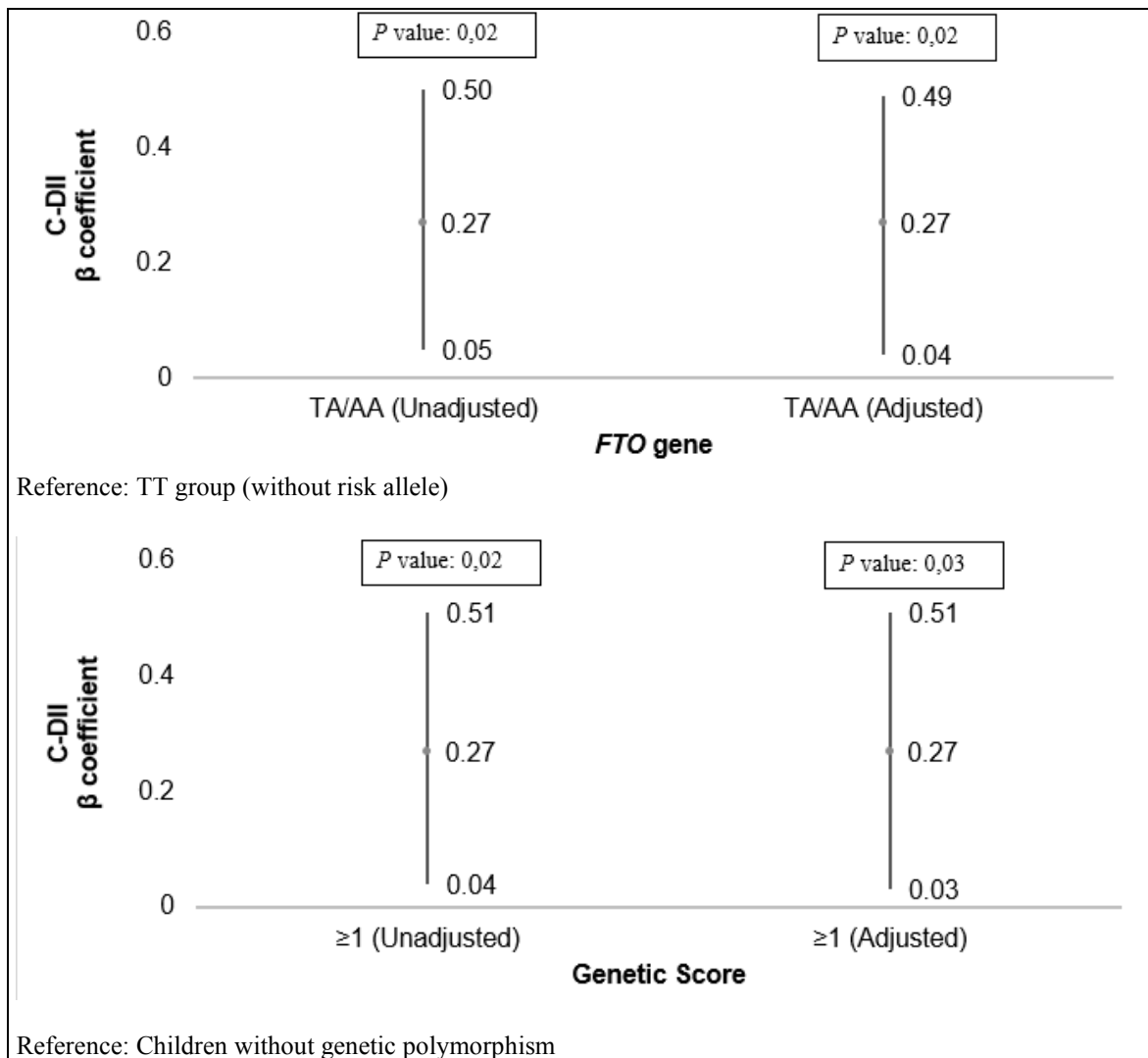


Figure 1. Association of *FTO* gene and genetic score with the Children's Dietary Inflammatory Index (C-DII) in schoolchildren from Viçosa, Minas Gerais, Brazil, 2015.

Model adjusted by sex, age, screen time, per capita income, and % body fat.

TT: individuals without polymorphism; AT: heterozygous individuals with a risk allele; AA: individuals with polymorphism in the *FTO* gene.

## 7. CONCLUSÕES GERAIS

Neste estudo foi identificado uma elevada prevalência de excesso de peso e de perfil lipídico alterado no grupo infantil. A média do IID-I revelou o consumo predominante de uma dieta pró-inflamatória nas crianças, e foi encontrada uma elevada prevalência de polimorfismos dos genes *FTO*, *MC4R* e *MTMR9*.

O alelo de risco do gene *MTMR9* e o escore genético se associaram positivamente ao maior risco aterogênico (menores valores de HDL-c e maiores valores de CT/HDL-c, LDL-c/HDL-c, AC, LCI e AIP) nas crianças.

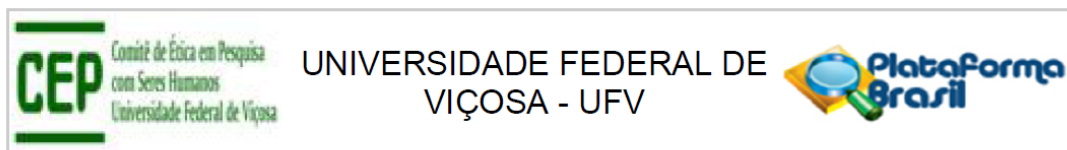
Quanto ao alelo de risco do gene *FTO* e o escore genético, estes se associaram positivamente ao consumo de uma dieta pró-inflamatória.

A elevada prevalência de alterações cardiometabólicas encontrada neste estudo, evidencia a importância da prevenção, monitoramento e tratamento da obesidade e do perfil lipídico alterado na infância. O consumo de uma dieta pró-inflamatória, rica em alimentos ultraprocessados e pobre em alimentos naturais e saudáveis, pode favorecer à ocorrência destes desfechos não saudáveis, corroborando com a necessidade de prevenção e monitoramento do elevado consumo de produtos industrializados pelo público infantil, por meio de atividades de educação alimentar e nutricional com as crianças, incluindo as famílias e as escolas. Ressalta-se a importância da intervenção nutricional como ação preventiva e de promoção da saúde, uma vez que a alimentação não-saudável é um fator de risco modificável não só para desfechos não saudáveis, mas também para a presença de polimorfismos genéticos na infância (*FTO* e escore genético).

Avaliar o perfil genético do indivíduo permite o estabelecimento de estratégias individualizadas, por meio da identificação dos alvos terapêuticos. Neste estudo demonstrou-se a relação gene-dieta-doença, uma vez que o genótipo do indivíduo se relacionou ao consumo de uma dieta pró-inflamatória e ao maior risco aterogênico. Destaca-se a utilização de marcadores do risco cardiometabólico não tradicionais para a identificação do risco aterogênico e o ineditismo desse trabalho ao utilizar o IID-I, um método ainda pouco explorado na literatura e validado para o público infantil.

## 8. ANEXOS

### ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFV - PASE



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** VITAMINA D NA INFÂNCIA: INGESTÃO, NÍVEL SÉRICO E ASSOCIAÇÃO COM FATORES DE RISCO CARDIOVASCULARES

**Pesquisador:** Juliana Farias de Novaes

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 19532414.9.0000.5153

**Instituição Proponente:** Departamento de Nutrição e Saúde

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 663.171

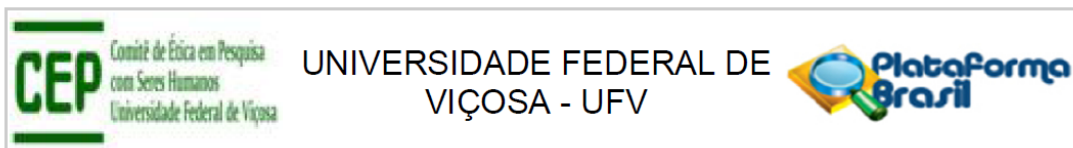
**Data da Relatoria:** 03/06/2014

##### Apresentação do Projeto:

O presente protocolo foi enquadrado como pertencente à(s) seguinte(s) Área(s) Temática(s): "Ciências da Saúde e Saúde Coletiva / Saúde Pública".

No documento intitulado "PB\_PROJETO\_DE\_PESQUISA\_195324%20(1).pdf", item introdução, lê-se: "A 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (vitamina D) é um hormônio que regula o metabolismo do cálcio e do fósforo. Sua principal função é manter os níveis de cálcio e fósforo em um estado normal capaz de propiciar condições à maioria das funções metabólicas, entre elas a mineralização óssea (HOLICK,2006). A vitamina D é essencial durante a infância porque está envolvida no crescimento. Os níveis séricos normais de vitamina D determinam a absorção de 30% de cálcio da dieta e a sua deficiência pode causar atraso no crescimento, anormalidades ósseas e aumento do risco de fraturas (BUENO&CZEPIELEWSKI, 2008). A síntese cutânea da vitamina D, a partir da exposição solar, é a principal fonte para os indivíduos, além desta vitamina também ser obtida pela alimentação e uso de suplementos. Entretanto, a síntese cutânea pode variar de acordo com a época do ano, pigmentação da pele, idade e uso de filtros solares (HOLICK, 2007) Supõe-se que uma alimentação saudável seja suficiente para fornecer níveis adequados de vitamina D, entretanto, nem sempre isto ocorre. Existem alguns alimentos fontes de vitamina D tais como gema de ovo, fígado, manteiga e leite que podem ser menos consumidos em

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** campus Viçosa **CEP:** 36.570-000  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



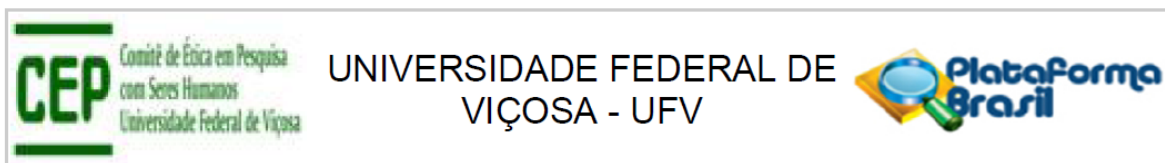
Continuação do Parecer: 663.171

função do teor aumentado de colesterol. Óleos de peixe também são excelentes fontes de vitamina D apesar de, muitas vezes, não serem consumidos em quantidades necessárias por populações (CALVO & WHITING, 2006). A deficiência/insuficiência de vitamina D tem sido considerada um problema de saúde pública no mundo (BINKLEY et al., 2010). Apesar do Brasil ser um país de clima tropical, níveis subclínicos de vitamina

D tem sido encontrados na população (PETERS et al., 2009; FOSS, 2009). Em estudos brasileiros, realizados com adolescentes, foram encontradas prevalências de 60 e 70,6% de níveis séricos insuficientes de vitamina D nos municípios de São Paulo (SP) e Juiz de Fora (MG), respectivamente (PETERS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013). Um adequado nível de vitamina D é essencial em todos os estágios de vida e há um consenso de que a concentração sérica de calcitriol [25(OH)D] é o melhor indicador desta vitamina (BINKLEY et al., 2010). Baixos níveis de calcitriol afetam diretamente a absorção de cálcio e

a mineralização óssea. Além disso, estudos têm mostrado que a deficiência desta vitamina é um fator associado ao desenvolvimento de doenças metabólicas e endócrinas (FOSS, 2009; BORGES et al., 2011). A vitamina D pode estar envolvida em vários processos tais como diferenciação e proliferação celular, secreção hormonal (ex: insulina), sistema imune e diversas doenças crônicas não-transmissíveis tais como obesidade, intolerância à glicose, aumento da pressão arterial e dislipidemias (KELLY et al., 2011). Estudos epidemiológicos recentes têm demonstrado que altos níveis séricos da 25-hidroxivitamina D (25OHD) estão associados com menor pressão arterial média e com redução da prevalência de hipertensão (PARIKH et al., 2005; SCRAGG et al., 2007). Por outro lado, a elevação na pressão arterial está associada com a gordura visceral, assim como níveis séricos de vitamina D também se apresentam reduzidos em indivíduos com maior quantidade de gordura corporal (SYME et al., 2008). A vitamina D pode afetar a resposta insulínica ao estímulo da glicose direta ou indiretamente (ZEITZ et al., 2003). O efeito direto parece ser mediado pela ligação da 1,25(OH)2D3 ao receptor da vitamina D da célula-. Além disso, a ativação da vitamina D pode ocorrer dentro das células- pela enzima 1-hidroxilase, expressa nessas células (BLAND et al., 2004). O efeito indireto é mediado pelo fluxo de cálcio intra e extracelular nas células-. O aumento na 1,25(OH)2D3 e no PTH induz maior influxo de cálcio para o interior das células. Como a secreção de insulina é um processo cálcio-dependente mediado pela 1,25(OH)2D3 e pelo PTH, o aumento nas concentrações destes, devido à insuficiência de 25(OH)D, pode reduzir a capacidade secretora dessas células (ZEITZ et al., 2003; ). Além disso, a deficiência de 25(OH)D parece dificultar a capacidade das células- na conversão da pró-insulina à insulina (AYESHA et al., 2001). Em resumo, os efeitos da vitamina D no diabetes

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** campus Viçosa **CEP:** 36.570-000  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 663.171

evidenciam que a deficiência de 25(OH)D altera asíntese e secreção de insulina, tanto em modelos animais como em humanos (SCHUCH et al.,2009).O marcante número de publicações que identificam uma inadequação na concentração sérica de vitamina D em todo o mundo tem despertado o interesse de pesquisadores de avaliar a relação desta vitamina com doenças metabólicas (PETERLICK & CROSS,2005). Entretanto, esses estudos foram realizados principalmente com adultos e idosos e, até o momento, não há pesquisas avaliando vitaminaD sérica em crianças no Brasil. Como estudos epidemiológicos têm constatado aumento da prevalência de obesidade e de comorbidades associadas na infância (WANG et al., 2002; CÂNDIDO et al., 2009),o objetivo deste estudo é avaliar a ingestão e nível sérico de vitamina D entre crianças, e suas associações com fatores de risco cardiovasculares.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

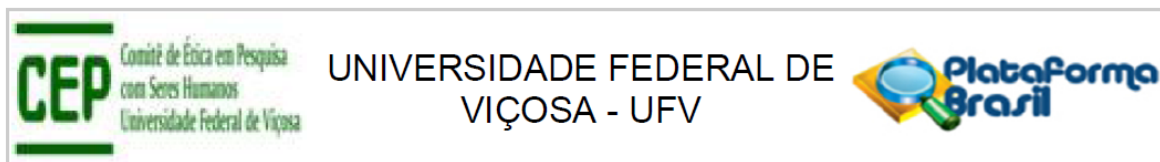
De acordo com o documento intitulado "PB\_PROJETO\_DE\_PESQUISA\_195324%20(1).pdf", o objetivo do projeto é: "Avaliar a ingestão e nível sérico de vitamina D e suas associações com fatores de risco cardiovasculares na infância."

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os pesquisadores indicam no documento intitulado "PB\_PROJETO\_DE\_PESQUISA\_195324%20(1).pdf", os seguintes Riscos: "A participação das crianças não envolve nenhum risco potencial à saúde. Entretanto poderá ocorrer desconforto ou incômodo na coleta de sangue e na aferição das medidas antropométricas durante avaliação nutricional. Como medida preventiva, a coleta de sangue será realizada por enfermeiros devidamente treinados com materiais descartáveis, sem risco de contaminação. A avaliação nutricional será realizada em salas agradáveis e com privacidade para minimização de possíveis constrangimentos, sendo todas as medidas antropométricas indolores." e os seguintes benefícios: "Os resultados de ingestão e níveis séricos de vitamina D e suas associações com fatores de risco cardiovasculares na infância serão apresentados para a Prefeitura Municipal de Viçosa com o objetivo de subsidiar as políticas públicas de saúde, bem como os programas de atenção à saúde de crianças, de forma a aprimorar a prática dos profissionais envolvidos na área de saúde pública,especialmente aqueles do município de Viçosa e microrregião. O objetivo é estabelecer uma relação de diálogo entre pesquisadores e sociedade, fortalecendo a integração ensino-pesquisa

-serviço,fundamentados nas propostas do SUS através da qualificação dos profissionais e dos serviços prestados, com benefício direto à população e com alcance social local e regional.Este projeto proporcionará atendimentos nutricionais individuais com as crianças visando à reeducação alimentar e alteração do estilo de vida, quando necessário. Esta orientação nutricional será

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** campus Viçosa **CEP:** 36.570-000  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 663.171

importante para promoção da alimentação saudável e do estilo de vida ativo, prevenindo assim, os fatores de risco cardiovasculares na vida atual e futura.”. Os benefícios apresentados pelos pesquisadores sobrepõem os riscos informados, sendo estes considerados mínimos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto apresentado atendeu às exigências referentes aos aspectos éticos que envolvem as pesquisas com seres humanos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.

**Recomendações:**

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto aprovado.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Ao término da pesquisa é necessária a apresentação do Relatório Final e após a aprovação desse, deve ser encaminhado o Comunicado de Término dos Estudos.

Projeto analisado durante a 3ª reunião de 2014.

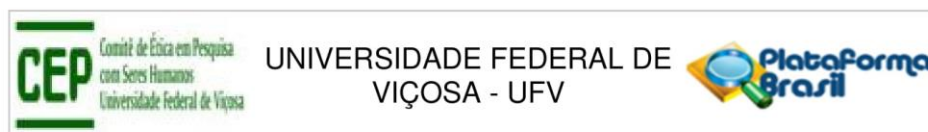
VICOSA, 27 de Maio de 2014

---

**Assinado por:**  
**Patrícia Aurélia Del Nero**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** campus Viçosa **CEP:** 36.570-000  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br

## ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFV - PROLAC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Associação do padrão alimentar com alterações metabólicas e de composição corporal em crianças de 4 a 7 anos de idade

**Pesquisador:** Sylvia do Carmo Castro Franceschini

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 37866814.3.0000.5153

**Instituição Proponente:** Departamento de Nutrição e Saúde

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 892.476

**Data da Relatoria:** 09/12/2014

#### Apresentação do Projeto:

O projeto trata-se de um estudo epidemiológico observacional do tipo transversal, tendo como unidade de estudo o indivíduo. Serão avaliadas crianças com idades entre 4 e 7 anos que foram acompanhadas pelo Programa de Apoio à Lactação (PROLAC) nos primeiros meses de vida. Para avaliação dos fatores de risco cardiometabólicos nas crianças serão realizadas as seguintes avaliações: aplicação de questionários, realização de exames bioquímicos, avaliação antropométrica e de composição corporal (incluindo a utilização do DEXA). As crianças serão submetidas às avaliações citadas em um único momento. Todas as crianças receberão retorno das avaliações realizadas, através de atendimento nutricional individualizado.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

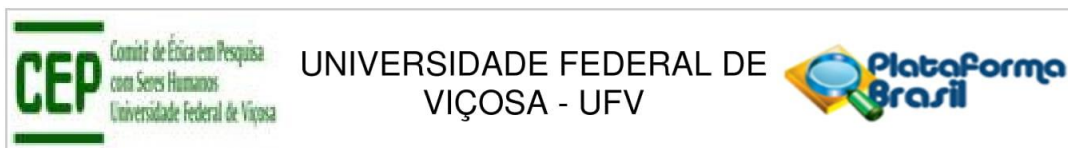
Avaliar a associação entre o padrão alimentar e as alterações metabólicas e de composição corporal em crianças de 4 a 7 anos de idade do município de Viçosa, Minas Gerais.

Objetivo Secundário:

-Determinar o padrão alimentar da população estudada;

-Caracterizar a população estudada quanto aos parâmetros antropométricos, de composição e

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Edifício Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 892.476

distribuição da gordura corporal, hábitos alimentares, estilo de vida e parâmetros clínicos e metabólicos;  
 -Verificar a associação independente entre padrão alimentar e alterações metabólicas, no estado nutricional, composição corporal e pressão arterial da população estudada;  
 -Identificar os melhores pontos de corte para perímetro da cintura e percentual de gordura corporal na predição do risco para alterações metabólicas na população estudada.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Segundo os pesquisadores os riscos são mínimos, sendo relacionados ao desconforto do responsável pela criança durante a aplicação dos questionários, mas que será minimizado pelo pesquisador, que fará a entrevista em local reservado e em curto tempo. Além disso, o desconforto da criança durante a realização das medidas corporais e coleta de sangue será minimizado pelo pesquisador, que obterá as medidas em local fechado e adequado, de forma individual, respeitando a vontade da criança e utilizando as técnicas adequadas. Durante a coleta de sangue serão tomadas medidas de prevenção para garantir a segurança e saúde dos participantes. Para tanto, a coleta de sangue será realizada por profissional técnico treinado do Laboratório de Análises Clínicas da UFV e serão utilizados materiais descartáveis e estéreis. Os benefícios incluem o conhecimento sobre o estado nutricional e de saúde da criança, a avaliação da alimentação, orientações nutricionais e acompanhamento do estado nutricional da criança.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa é de grande relevância, pois visa fazer a avaliação do estado nutricional e de saúde de crianças que, ao nascer, participaram de um programa destinado aos cuidados nutricionais e estímulo a amamentação realizado no município de Viçosa, junto à UFV.

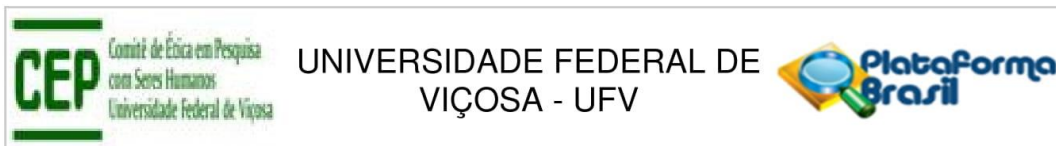
**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.

**Recomendações:**

Quando da coleta de dados, o TCLE deve ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por ser representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha.

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Edifício Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 892.476

Não é necessário apresentar os TCLEs assinados ao CEP/UFV. Uma via deve ser mantida em arquivo pelo pesquisador e a outra é do participante da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Ao término da pesquisa é necessária a apresentação do Relatório Final, via notificação, e após a aprovação desse, deve ser encaminhado o Comunicado de Término dos Estudos, via notificação.

Projeto analisado durante a 10ª reunião de 2014, realizada nos dias 12 e 14 de novembro de 2014.

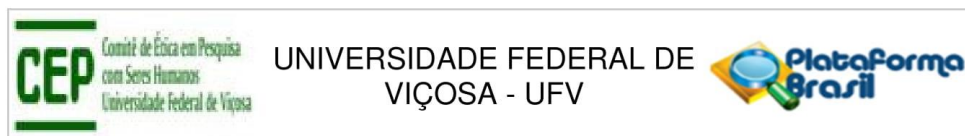
VICOSA, 01 de Dezembro de 2014

---

**Assinado por:**  
**Neuza Maria da Silva**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Edifício Arthur Bernardes, piso inferior  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **Fax:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br

## ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFV – Projeto Polimorfismo.



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Determinantes genéticos, ambientais e consumo alimentar de desfechos de peso e composição corporal em duas coortes de crianças desde o nascimento até 7 anos.

**Pesquisador:** Sylvia do Carmo Castro Franceschini

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 37866814.3.0000.5153

**Instituição Proponente:** Departamento de Nutrição e Saúde

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.832.590

#### Apresentação do Projeto:

EMENDA: Deseja-se ampliar a faixa etária do estudo para crianças e adolescentes de 4 à 14 anos. Houve um aumento considerável da prevalência de obesidade na adolescência, portanto, também torna-se importante a identificação de polimorfismos genéticos nesse grupo etário. A identificação de polimorfismos associados à obesidade pode auxiliar no tratamento e na prevenção da obesidade.

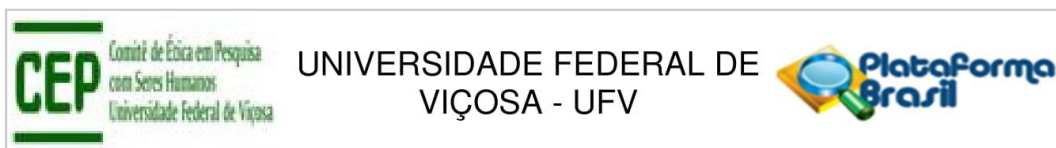
#### Objetivo da Pesquisa:

Investigar a influência do ambiente (físico e social), padrão alimentar e polimorfismos (rs 9939609 do gene FTO e rs 17782313 próximo ao gene MC4R) sobre risco de desfechos nutricionais (ganho de peso, de composição corporal e de crescimento rápido) e suas interações em duas coortes de crianças.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos envolvidos no estudo são mínimos, visto que a coleta do swab é um procedimento rápido e indolor. Ressalta-se ainda que tais riscos serão minimizados pelo pesquisador, que obterá a amostra em local fechado e adequado, de forma individual, respeitando a vontade da criança e utilizado as técnicas adequadas.

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Avenida PH Rolfs s/n, Edifício Arthur Bernardes  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 2.832.590

**Benefícios:** Os benefícios do estudo consistem em permitir a associação entre os fatores genéticos, alimentares e ambientais sobre a saúde das crianças. Os resultados deste estudo também permitirão inferir sobre as mudanças necessárias na atenção prestada pelo referido município, vistas as consequências imediatas e futuras sobre a saúde dos indivíduos. Ao final do estudo, a equipe apresentará os resultados da pesquisa para os gestores municipais de saúde e para os responsáveis pelas equipes das unidades básicas de saúde.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo de alta relevância uma vez que poderá auxiliar no tratamento e na prevenção da obesidade infantil.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Apresentados conforme exigências da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

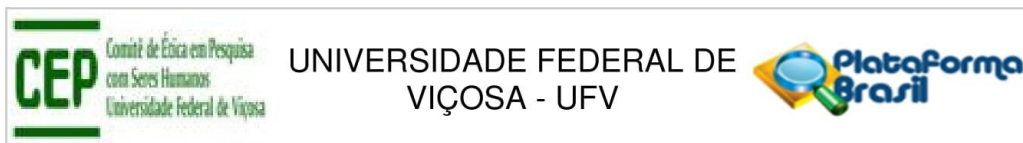
Emenda aprovada nos termos expostos pelo pesquisador.

Ao término da pesquisa é necessário apresentar, via notificação, o Relatório Final (modelo disponível no site [www.cep.ufv.br](http://www.cep.ufv.br)). Após ser emitido o Parecer Consubstanciado de aprovação do Relatório Final, deve ser encaminhado, via notificação, o Comunicado de Término dos Estudos para o encerramento de todo o protocolo na Plataforma Brasil.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1182894_E2.pdf	19/07/2018 15:34:22		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_Consentimento.pdf	20/06/2018 19:33:43	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Parecer Anterior	CARTA_RESPOSTAS_PENDENCIAS.pdf	20/06/2018 19:27:02	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Avenida PH Rolfs s/n, Edifício Arthur Bernardes  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 2.832.590

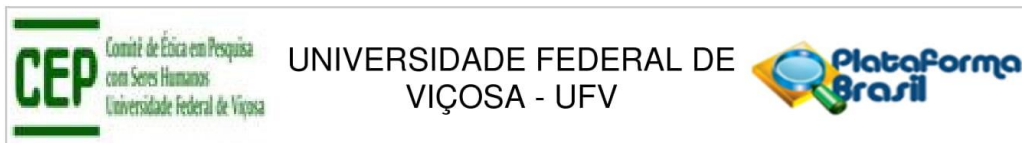
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_infraestrutura.pdf	20/06/2018 19:22:54	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	20/06/2018 19:17:27	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	29/08/2017 23:42:20	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Pesquisador.pdf	29/08/2017 23:42:06	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	29/08/2017 23:41:49	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.pdf	29/08/2017 23:41:23	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Material.pdf	29/08/2017 23:41:08	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	29/08/2017 23:38:00	Sylvia do Carmo Castro Franceschini	Aceito
Outros	Carta resposta.pdf	19/11/2014 09:00:52		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de pesquisa.pdf	24/10/2014 13:23:05		Aceito
Outros	Declaração Divisão de Saúde.pdf	22/10/2014 16:10:30		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de pesquisa.pdf	15/10/2014 09:59:20		Aceito
Outros	Oficio_encaminhamento.pdf	15/10/2014 09:48:14		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorização uso banco de dados.pdf	15/10/2014 09:47:20		Aceito
Outros	Roteiro de entrevistas.pdf	15/10/2014 09:34:57		Aceito
Outros	Questionários.pdf	15/10/2014 09:22:13		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Avenida PH Rolfs s/n, Edifício Arthur Bernardes  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br



Continuação do Parecer: 2.832.590

Não

VICOSA, 21 de Agosto de 2018

---

**Assinado por:**  
**Maria da Conceição Aparecida Pereira Zolnier**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Universidade Federal de Viçosa, Avenida PH Rolfs s/n, Edifício Arthur Bernardes  
**Bairro:** Campus Universitário **CEP:** 36.570-900  
**UF:** MG **Município:** VICOSA  
**Telefone:** (31)3899-2492 **E-mail:** cep@ufv.br