



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAISSA FIDÉLCIO DE SOUZA

Polimorfismos genéticos do gene *SIRT1* e risco para obesidade pediátrica

Goiânia
2021

RAISSA FIDÉLCIO DE SOUZA

Polimorfismos genéticos do gene *SIRT1* e risco para obesidade pediátrica

Monografia apresentada a Escola de Ciências Médicas e da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito obrigatório para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Lysa Bernardes Minasi
Coorientadora: Ms. Jakeline Soares Fortes

Goiânia
2021

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
CURSO DE BIOLOGIA BACHARELADO**

BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA

Aluna: Raissa Fidélcio de Souza

Orientadora: Profa. Dra. Lysa Bernardes Minasi

Membros:

- 1. Profa. Dra. Lysa Bernardes Minasi**
- 2. Profa. Dra. Flávia Melo Rodrigues**
- 3. Profa. Dra. Emília Oliveira Alves Costa**

Dedico este trabalho aos meus avós, em memória, Idalina e Dimas, Maria e José. Amados avós que uniram a Deus, os corações e os genes. Amados avós que partilhei a vida boa. Grata por tudo que aprendi.

AGRADECIMENTOS

Concluir este trabalho vai além do título de bióloga, representa todo esforço exercido por uma rede de apoio que tiveram paciência, tempo, compartilharam conhecimento e ensinamentos comigo.

Agradeço aos meus pais, que não mediram esforços para investir nos meus estudos, por todo o apoio e por tornar possível essa realização, aos meus amigos e colegas que fizeram parte de vários momentos inesquecíveis.

Agradeço a todos professores que fizeram parte da minha formação desde o primário, profissionais que são instrumento para um futuro melhor.

Agradeço a minha coorientadora pela parceria ao longo da graduação, por ser tão resiliente com as dificuldades que enfrentamos no decorrer da pesquisa e a minha orientadora que é uma profissional incrível, pela disponibilidade de me acompanhar e ao apoio durante o desenvolvimento do trabalho, estando sempre disposta a transmitir os seus conhecimentos.

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora por ter me guiado por um caminho com pessoas que lutam em defesa da ciência com sabedoria e esperança para um mundo melhor.

RESUMO

Ao longo dos anos, a prevalência mundial da obesidade em criança e adolescentes tem aumentado consideravelmente encarada como um importante problema de saúde pública e de natureza multifatorial. Seu constante aumento está associado com a interação de diversos fatores etiológicos. Diferentes polimorfismos genéticos têm sido associados com risco para a obesidade. A proteína SIRT1 faz parte de um conjunto de proteínas de importante ação endócrina no metabolismo da glicose e lipídios. A expressão alterada da proteína leva ao comprometimento nas vias metabólicas o que resulta na ineficácia do controle do metabolismo lipídico, gerando predisposição ao ganho de peso. O objetivo do estudo foi avaliar a associação entre obesidade pediátrica e os polimorfismos rs33957861 e rs1467568 do gene *SIRT1*. Foi realizado um estudo caso-controle com 225 crianças e adolescentes, 123 obesos (caso) e 102 eutróficos (controle), na faixa etária entre 5 e 16 anos. Amostras de sangue periférico foram coletadas para a genotipagem usando sondas TaqMan e a técnica de PCR em tempo real. A análise de regressão múltipla revelou que pais e mães com maiores IMC têm filhos com Z-IMC maiores e que 45% da variabilidade do Z-IMC foi explicada pelas variáveis IMC mãe e IMC pai. A presença do alelo G do SNP rs1467568 foi associado com risco de susceptibilidade à obesidade. Por outro lado, o alelo de risco para o polimorfismo rs33957861 não foi associado à obesidade pediátrica. O polimorfismo rs1467568 do gene *SIRT1* pode ser considerado um bom marcador para a obesidade pediátrica. Outros estudos com maiores populações pediátricas e esta variante polimórfica são necessários, a fim de confirmar o impacto deste polimorfismo para a susceptibilidade à obesidade.

Palavras-chave: genotipagem; qPCR; sirtuína.

ABSTRACT

The worldwide prevalence of obesity in children and adolescents has increased considerably and is considered an important public health problem. A multifactorial disease whose constant increase is associated with the interaction of several etiological factors. Different genetic polymorphisms have been associated with obesity risk. The SIRT1 protein is part of a group of proteins with an important endocrine action in the metabolism of glucose and lipids. The altered expression of the protein leads to impairment in the metabolic pathways, which results in the ineffectiveness of the control of lipid metabolism, generating a predisposition to weight gain. The aim of the study was to evaluate the association between pediatric obesity and the rs33957861 and rs1467568 polymorphisms of the *SIRT1* gene. A case-control study was accomplished with 225 children and adolescents, 123 obese (case) and 102 eutrophic (control), aged between 5 and 16 years. Peripheral blood samples were collected for genotyping using TaqMan probes and real-time PCR technology. Multiple regression analysis revealed that fathers and mothers with higher BMI have children with higher Z-BMI and 45% of the variability of Z-BMI was explained by the variables BMI mother and BMI father. The presence of the G risk allele of the rs1467568 polymorphism was associated with risk of obesity susceptibility. On the other hand, the risk allele for the rs33957861 polymorphism was not associated with pediatric obesity. The rs1467568 polymorphism of the SIRT1 gene can be considered a good marker for pediatric obesity. Further studies with larger pediatric populations and this polymorphic variant are needed to confirm the impact of this polymorphism on obesity susceptibility.

Keywords: genotyping; qPCR; sirtuin.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Gráfico de IMC para menino, na faixa etária de 5 a 19 anos, em Z-score. Fonte: WHO, 2021	2
Figura 2. Gráfico de IMC para menina, na faixa etária de 5 a 19 anos, em Z-score. Fonte: WHO, 2021	3
Figura 3. Representação gráfica para um heterozigoto do polimorfismo rs1467568. A curva rosa representa o alelo G e a curva verde o alelo A. Fonte: A autora	16
Tabela 1. Valores de referência do IMC para avaliar o estado nutricional em adultos	2
Tabela 2. Valores de referência para o diagnóstico do estado nutricional de crianças e adolescentes segundo a OMS	3
Tabela 3. Percentual nutricional de crianças entre 5 a 10 anos no Brasil em 2020	4
Tabela 4. Sequência das sondas usadas na marcação dos alelos	15
Tabela 5. Dados sociodemográficos e antropométricos do grupo de crianças e adolescentes obesas e eutróficas	17
Tabela 6. Frequência genotípica dos SNPs do gene <i>SIRT1</i> dos grupos obesos e eutróficos	19
Tabela 7. Frequência alélica do gene <i>SIRT1</i> nos grupos obesos e eutróficos e dados do ALFA	20

SUMÁRIO

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	1
1.1 Obesidade pediátrica: descrição geral e epidemiológica	1
1.2 Comorbidades relacionadas à obesidade pediátrica	5
1.3 Fatores causais associados à obesidade pediátrica	6
1.3.1 Aspectos ambientais e estilo de vida	6
1.3.2 Aspectos genéticos	7
1.3.2.1 O gene <i>SIRT1</i>	9
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS	13
4.1 Delineamento experimental	13
4.2 Considerações éticas	13
4.3 Grupo amostral	13
4.4 Amostras biológicas, extração e quantificação do DNA	14
4.5 Genotipagem dos polimorfismos	14
4.5.1 Reação em cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR)	14
4.6 Análise estatística	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6. CONCLUSÕES	22
REFERÊNCIAS	23
APÊNDICE	29

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Obesidade pediátrica: descrição geral e epidemiológica

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo afetando a regulação da homeostase energética do organismo. É uma condição de etiologia multifatorial, envolvendo diversos elementos desencadeantes, como fatores genéticos, ambientais, sociais, econômicos, nutricionais, psicológicos e metabólicos. Esses fatores predisõem a complicações na saúde desde a infância, promovendo riscos para surgimento de novas doenças e podendo evoluir para vida adulta (COSTA *et al.*, 2021).

De acordo com a localização da gordura corporal, pode ser feita a classificação da obesidade, como a obesidade andróide conhecida também como o tipo maçã, caracterizada pelo acúmulo de gordura na região abdominal e do tronco. Já a obesidade ginóide, conhecida como o tipo pera, é caracterizada pelo acúmulo de gordura na região do quadril ou glúteo femoral. Esta doença pode ser classificada também em endógena e exógena, a endógena consiste na interação secundária a síndromes genéticas e endocrinopatias que representa cerca de 5% dos casos, e exógena quando está associada a ingestão excessiva de alimentos, geralmente representando cerca de 95% dos casos (MOREIRA *et al.*, 2014).

O Índice de Massa Corporal (IMC) é usado para avaliar o estado nutricional em adultos, definido pelo peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado (Tabela 1). No entanto, para crianças e adolescentes o seu uso não é adequado. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda avaliar o estado nutricional de crianças e adolescentes usando a curva de crescimento pelo parâmetro escore Z. Nas curvas em escore Z é avaliado o IMC de acordo com a idade e sexo (Figura 1 e 2). Valores do Z-score $\geq +2$ a criança ou adolescente é classificado com obesidade (Tabela 2). O resultado do Z-IMC é obtido de acordo com o sexo e idade e pode estar relacionado com os vários fatores, sendo necessário fazer um diagnóstico mais aprofundado com um profissional (PINTO, 2014).

Tabela 1. Valores de referência do IMC para avaliar o estado nutricional em adultos.

Classificação	IMC (kg/m ²)
Abaixo do peso	16,5 – 18,5
Peso normal	≥ 18,5 – 24,9
Sobrepeso	≥ 25 – 29,9
Obesidade	≥ 30
Obesidade grau I	30 – 34,9
Obesidade grau II	35 – 39,9
Obesidade grau III	≥ 40

Fonte: PINTO, 2014.

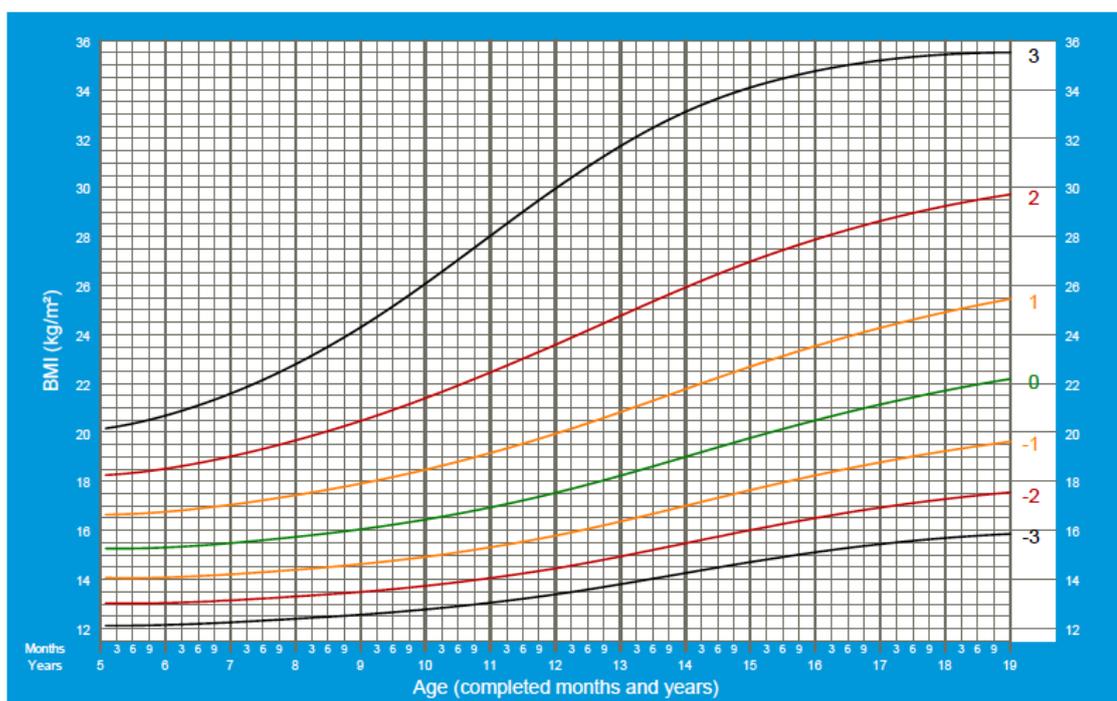


Figura 1. Gráfico de IMC para menino, na faixa etária de 5 a 19 anos, em Z-score. Fonte: WHO, 2021.

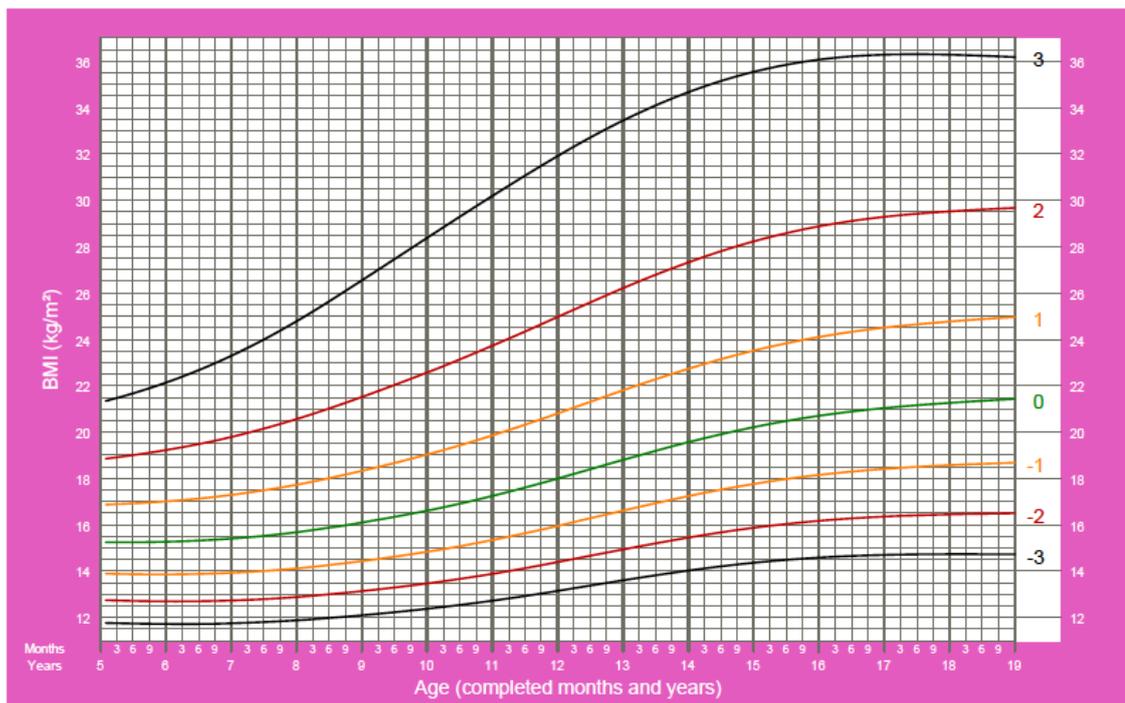


Figura 2. Gráfico de IMC para menina, na faixa etária de 5 a 19 anos, em Z-score. Fonte: WHO, 2021.

Tabela 2. Valores de referência para o diagnóstico do estado nutricional de crianças e adolescentes segundo a OMS.

Classificação	Z-score
Desnutrição acentuada	< -3
Abaixo do peso	≥ -3 e < -2
Peso normal	≥ -2 e < +1
Sobrepeso	≥ +1 e < +2
Obesidade	≥ +2 e ≤ +3
Obesidade grave	< +3

Fonte: MELO, 2021.

Ao longo dos anos houve o aumento da prevalência do excesso de peso em crianças no mundo. De acordo com a OMS, mais de 340 milhões de crianças e adolescentes entre 5 e 19 anos estavam na faixa sobrepeso ou obeso, em 2016, e 38,9 milhões de crianças menores de 5 anos estavam com sobrepeso ou obesidade no ano de 2020. A prevalência de meninas e meninos com obesidade, em 2020, foi 9,4% e 12,4%, respectivamente (BRASIL, 2021a). A obesidade pediátrica já é considerada um problema de saúde pública mundial, neste sentido a OMS está atualmente desenvolvendo novas diretrizes com base na ciência para poder auxiliar ainda mais no diagnóstico das crianças susceptíveis a obesidade (WHO, 2021).

No Brasil, de acordo com o Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN), a prevalência de adolescentes com sobrepeso foi de 19,97%, 9,55% com obesidade e 2,41% de adolescentes com obesidade grave (Tabela 3) (BRASIL, 2021b). No Brasil, entre 2010 e 2020, a prevalência de obesidade em crianças, na faixa etária de 2 a 5 anos, aumentou 0,74%, em adolescentes houve um aumento de 5,86%, e de 1,55% de aumento na prevalência de obesidade grave (BRASIL, 2020c).

Tabela 3. Percentual nutricional de crianças entre 5 a 10 anos no Brasil em 2020.

	Abaixo do peso	Peso normal	Sobrepeso	Obesidade	Obesidade grave	Total
	2,87%	64,17%	19,97%	9,55%	2,41%	
n	89.078	1.988.603	618.967	295.829	74.534	3.067.011

Fonte: BRASIL, 2021b.

Desse modo, em 2020, cerca de 6,4 milhões de crianças na faixa etária de 5 a 10 anos apresentaram excesso de peso e 3,1 milhões delas já em condição de obesidade, segundo o Ministério da Saúde (MS), em publicação de alerta para hábitos saudáveis desde a infância como prevenção de futuras comorbidades. Neste contexto, dados registrados pelo SISVAN revelam que uma em cada três crianças, com até 10 anos, está acima do peso no Brasil. Crianças com sobrepeso possuem a chance de 55% de se tornarem adolescentes obesos, elevando o risco para 80% de chance de serem adultos obesos (BRASIL, 2021d).

Neste sentido, a vigilância neste grupo etário é de extrema importância pois a obesidade pediátrica está associada a uma maior chance de morte prematura e incapacidade na vida adulta. Crianças com sobrepeso e obesas apresentam uma maior probabilidade de permanecer obesas até a idade adulta e desenvolver doenças não transmissíveis (DNTs) como diabetes e doenças cardiovasculares em uma idade mais jovem, sofrendo consequências para a saúde tanto de curto como de longo prazo (WHO, 2021).

1.2 Comorbidades relacionadas à obesidade pediátrica

O excesso de peso e a obesidade na infância pode evoluir negativamente elevando o risco de resistência insulínica, precursora da causa de diabetes mellitus tipo 2, e estar associada ao desenvolvimento de síndrome metabólica, hipertensão arterial, dislipidemia e doenças cardiovasculares. São aspectos que diminuem a qualidade de vida e exigem maior cuidado com a saúde (MOREIRA *et al.*, 2014).

A distribuição da gordura na região do abdômen é tida como prejudicial para a saúde, devido estar diretamente associada as doenças cardiovasculares e ao diabetes mellitus do tipo 2. No caso da diabetes mellitus tipo 2, o aumento da obesidade pediátrica explica o grande desenvolvimento da doença em populações jovens, causando um impacto contínuo (BESERRA *et al.*, 2020).

A síndrome metabólica é constituída por um conjunto de fatores de risco que aumentam o risco para doença cardiovascular, sendo diagnosticada quando há presença de três ou mais agentes desencadeantes em uma mesma pessoa. Os cinco principais fatores de risco são: circunferência abdominal aumentada ou obesidade abdominal, hipertensão arterial, glicemia alterada ou diabetes, triglicerídeos aumentados e níveis diminuídos da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) (OLIVEIRA *et al.*, 2020; NETO *et al.*, 2012).

A dislipidemia é definida pelo distúrbio no metabolismo lipídico, causador das alterações das concentrações de lipoproteínas na corrente sanguínea, associando-se a redução na HDL e elevação na LDL, podendo ser classificada como primária, de origem genética, provocada por mutações e desordem metabólica dos lipídios, e secundária, quando a causa é em decorrência de outras doenças ou devido ao uso de medicamentos (PEREIRA, 2017).

Além do mais, a obesidade pode influenciar a saúde mental das crianças e adolescentes, progredindo para distúrbios psicossociais, depressão e ansiedade. A baixa autoestima causada pela doença compromete diretamente o desempenho e/ou comprometimento funcional das crianças, tornando menos ativas e limitando a capacidade de envolver em atividades recreativas, provocando isolamento social. Também, são frequentemente expostas ao bullying, motivando estresse psicológico, gerando graves consequências emocionais e físicas (HUSSEIN *et al.*, 2020).

1.3 Fatores causais associados à obesidade pediátrica

1.3.1 Aspectos ambientais e estilo de vida

O ambiente familiar e social são fatores de grande influência na condição de obesidade nas crianças, refletindo na saúde a partir dos hábitos e nos padrões de estilo de vida. Mudanças alimentares inadequadas acontecem de acordo com a disponibilidade de preparo das refeições, condição socioeconômica e costumes culturais (LINHARES *et al.*, 2016).

Diante dessa situação, a ingestão de alimentos processados e ultraprocessados provoca efeitos nocivos na saúde, destacando pela palatabilidade, praticidade e rapidez, possuindo altas porções de gordura, sódio e açúcar, causando o aumento de distúrbios no perfil lipídico. Deste modo, o hábito de consumir esses alimentos deve ser administrado com muita cautela para prevenir impactos negativos na qualidade de vida desde a infância (BESERRA *et al.*, 2020).

A prevalência do sedentarismo em crianças e adolescentes também condiz ao meio que está inserida. Sendo influenciadas pelo avanço tecnológico dos aparelhos eletrônicos, promovendo a inatividade física e reduzindo horas de sono. É evidente que a prática de atividade física proporciona efeito reverso aos fatores de risco da obesidade, dessa forma, diminuindo as chances de desenvolverem doenças ligadas ao estilo de vida (FERRARI *et al.*, 2018).

Mudanças de hábitos e da rotina devido a pandemia da COVID-19 aumentaram o comportamento sedentário, reflexo do longo período de confinamento pandêmico. Devido às limitações provocadas, muitas crianças ficaram impossibilitadas de fazer recreações no ambiente externo, o que significa que elas têm se exercitado menos por conta do fechamento das escolas. Além disso, houve a alta do comércio de *fast food*, elevando o ganho de peso durante a pandemia em decorrência do consumo de comidas processadas e ultraprocessadas, são alguns dos fatores que estão em evidência em consequência do impacto na saúde pública mundial (COSTA *et al.*, 2020).

1.3.2 Aspectos genéticos

A hereditariedade apresenta risco elevado para à obesidade, de modo que o IMC dos pais influencia na variação do peso dos filhos. Estudos de segregação familiar apontaram herança de 40%, enquanto em gêmeos estimam 70% da variação do peso corporal (LOPES *et al.*, 2004). A suscetibilidade à obesidade pode começar desde a vida intrauterina, por conta do hábito nutricional inadequado da gestante, responsável por desencadear alterações na expressão gênica, provocar complicações perinatais e aumentar o risco de síndrome metabólica e outras doenças crônicas na vida adulta (SILVA *et al.*, 2018; SCHMIDT *et al.*, 2019).

A origem genética da obesidade é um importante fator para determinar sua classificação em sindrômica, monogênica e poligênica. De acordo com as causas multifatoriais e as alterações provocadas no genoma (PAZ *et al.*, 2017).

A obesidade sindrômica ou também chamada de obesidade monogênica sindrômica, frequentemente está relacionada a outras alterações, incluindo malformações congênitas, dismorfias, distúrbios comportamentais e deficiência intelectual. Algumas das principais síndromes associadas a condição de obeso é a Síndrome de Prader-Willi (OMIM 176270), causada, principalmente, por uma deleção no braço longo do cromossomo 15 paterno, geralmente associada a obesidade generalizada e grave (REIS, 2015).

A obesidade monogênica não sindrômica é causada pela mutação de um único gene, afetando a regulação da homeostase energética mediada pela via leptina-melanocortina. Mutações nos genes *MC4R*, *LEP*, *LEPR*, *PCSK1*, *ADCY3* e *POMC* estão associadas a prevalência desse tipo de obesidade em condição acentuada que se inicia na infância, uma vez que, o impacto na regulação energética afeta a atividade neuroendócrina realizada pelo hipotálamo (ROHDE *et al.*, 2019). Deste modo, o hipotálamo administra diversos hormônios, controlando ações endócrinas, comportamentais e influenciando o balanço energético. Por sua vez, a leptina, hormônio que participa da regulação do metabolismo de gordura e no consumo de energia, atua na resposta de saciedade, com isso, mutações em um único gene envolvido na via da leptina é capaz de provocar obesidade monogênica (REIS, 2015; GINETE, 2020).

Ao contrário da obesidade monogênica, a obesidade poligênica não é causada por um único gene. Acredita-se que as formas poligênicas de obesidade sejam determinadas pelo efeito agregado de múltiplas variantes genéticas comuns, cada uma com efeitos modestos (KAUR *et al.*, 2017). No caso da obesidade poligênica está associada a fatores hereditários e estilo de vida, quando relacionados aumentam a suscetibilidade para doença. No modo que, o estilo de vida atua na modulação dos genes. Sendo assim, a ocorrência da obesidade poligênica é correlacionada aos Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs), promovendo risco individual para o desenvolvimento de doenças ao longo da vida (SCHMIDT *et al.*, 2019; GINETE, 2020).

Os SNPs consistem em uma variação pontual em uma única posição no genoma, ocorrendo a troca de uma base por outra no DNA, que está presente em mais de 1% na população. Os SNPs podem acarretar, alterações na síntese de proteína ou interferindo na funcionalidade dessas, mas também podem estar presentes em regiões não codificantes do DNA. As variações de SNPs são divididas em transição e transversão. A transição, quando há trocas entre purinas (A ↔ G) ou entre pirimidinas (C ↔ T), e transversão quando há a substituição de uma purina por uma pirimidina ou vice-versa, sendo (A ↔ C, A ↔ T, G ↔ C ou G ↔ T) (OLIVEIRA, 2011).

A identificação de genes ligados à obesidade tem sido estabelecida a partir de estudos de associação ampla do genoma (GWAS), realizando análises de variações genéticas ao longo de todo o genoma humano. Os estudos de GWAS realizados em grandes populações determinam se mutações localizadas em diferentes loci do genoma, estão agregadas com uma doença ou um traço entre gerações (MOSCA *et al.*, 2012).

Através da técnica de GWAS foi descoberto a associação significativa de variantes genéticas comuns no gene *FTO* relacionado com obesidade e o gene *MC4R* é considerado uma das causas mais relevantes para a obesidade comum. Além, dos genes *TMEM18*, *GNPDA2*, *SH2B1*, *MTCH2*, *KCTD15*, *NEGR1* e *PCSK1*, sendo algumas variantes associadas com o nível de IMC e risco para obesidade (RAMOS, 2011; WANG *et al.*, 2012).

Além da variação genética, acredita-se que as marcas epigenéticas modulem o risco de obesidade por meio de seu impacto na regulação da expressão de genes relevantes. Os estudos de associação ampla do epigenoma são uma área crescente de pesquisa e, no momento, as evidências são mais sugestivas (GHOSH; BOUCHARD, 2017).

A metilação do DNA é uma das modificações epigenéticas mais amplamente estudada, e fatores ambientais na infância podem levar a mudanças no padrão de metilação do DNA. Deste modo, o IMC tem sido associado a variação no padrão de metilação do DNA desde o nascimento até a idade adulta, e outros fatores de risco no início da vida podem contribuir para obesidade pediátrica, como peso ao nascer e IMC materno, que foram associados a metilação no DNA (ROBINSON *et al.*, 2021).

1.3.2.1 O gene *SIRT1*

O gene *SIRT1* está localizado na região cromossômica 10q21.3, apresenta 11 éxons e 10 íntrons, e codifica a família das proteínas Sirtuínas (SIRTs). Consiste em um conjunto de 7 proteínas distribuídas no meio celular, sendo: núcleo (SIRT1, 2, 6 e 7); citoplasma (SIRT1 e 2); e mitocôndrias (SIRT3,4 e 5) (KILIC *et al.*, 2015).

A proteína SIRT1, localizada preferencialmente no núcleo, uma histona desacetilase dependente de NAD⁺, é expressa em muitos tecidos e sistemas de órgãos, como fígado, baço, rim, cérebro, coração, pâncreas, tecido endotelial, músculo esquelético e tecido adiposo branco. Desacetila uma série de fatores de transcrição e histonas que estão envolvidos na regulação de energia. O *SIRT1*, conhecido como gene da longevidade, protege as células contra o estresse oxidativo, promove a estabilidade do DNA ao se ligar a diversos substratos e desacetilar esses substratos (KILIC *et al.*, 2014).

O gene *SIRT1* é regulado positivamente durante situações de restrição calórica (RC) e codifica uma enzima desacetilase que medeia a resposta normal à dieta por meio de efeitos pleiotrópicos (PEETERS *et al.*, 2008). Durante a RC há o aumento da atividade *SIRT1* hepática que aumenta a gliconeogênese e inibe a glicólise. No pâncreas, a *SIRT1* estimula a secreção de insulina em resposta à glicose. No tecido adiposo, a *SIRT1* interage com o receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR γ) reprimindo sua atividade transcricional, levando à inibição da adipogênese durante o jejum e ativação da lipólise, isso resulta em perda de gordura (MENEGUETTE *et al.*, 2016).

O PPAR γ é regulador central da adipogênese e ainda regula muitos processos biológicos várias das quais tem impacto no metabolismo da glicose e dos ácidos graxos e inflamação (QUEIROZ *et al.*, 2009). Alguns estudos em humanos demonstraram uma associação positiva entre IMC diminuído e variantes do gene *SIRT1*, mas os resultados diferem entre diferentes populações (ZILLIKENS *et al.*, 2009).

Atua na regulação do controle de gasto energético, sendo importante para o monitoramento da saúde e prevenção de disfunções metabólicas e outras doenças (LENHARE, 2018). A *SIRT1* também tem importante ação endócrina no metabolismo da glicose e lipídios. Com a desregulação da proteína sua função nas vias metabólicas fica comprometida, causando aumento da resistência insulínica nas células pancreáticas já afetadas e desempenhando ineficácia no controle do metabolismo lipídico, deixando o indivíduo suscetível ao ganho de peso, principalmente na região abdominal. Consequentemente, com risco de obesidade, aumento da pressão arterial e níveis elevados do colesterol (LEE *et al.*, 2016).

A disfunção da *SIRT1*, pode resultar em modificações no material genético, a partir da desacetilação das histonas, removendo o radical acetil da molécula de lisina e promovendo a compactação da cromatina, impedindo a atuação da RNA-polimerase, responsável pela transcrição, dessa forma não ocorre a expressão gênica. Sendo assim, o DNA fica sujeito a alterações, possibilitando o surgimento de polimorfismos relacionados a doenças (LENHARE, 2018; GINETE, 2020).

Alguns polimorfismos já foram relatados para o gene *SIRT1*, sendo observado a participação dessas variações associadas a diferentes condições de saúde. Os polimorfismos rs3740051, rs2236319 e rs2272773 foram associados a taxas de gasto de energia em indivíduos finlandeses. O SNP, rs7069102, foi associado à obesidade em um estudo belga, o polimorfismo rs2273773, foi associado ao IMC em um estudo holandês e os SNPs rs7895833 e rs1467568, em uma população holandesa, foram associados ao IMC e obesidade (LAGOUGE *et al.*, 2006; PEDERSEN *et al.*, 2008; PEETERS *et al.*, 2008; VAN DEN BERG *et al.*, 2009; ZILLIKENS *et al.*, 2009). Assim como, os polimorfismos rs33957861 e rs11599176 foram associados com obesidade severa em adultos (CLARK *et al.*, 2012).

Considerando o papel do *SIRT1* na regulação da energia e as associações já relatadas e um gene candidato potencial para obesidade poligênica, o presente estudo busca investigar a relação entre os polimorfismos rs33957861 e rs1467568 com a obesidade na infância.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a associação entre obesidade pediátrica e os polimorfismos rs33957861 e rs1467568 do gene *SIRT1*.

2.2 Objetivos específicos:

- Apresentar a distribuição dos dados sociodemográficos e antropométricos dos pais e filhos;
- Reportar a influência do IMC dos pais com o Z-IMC dos filhos;
- Executar a técnica de PCR em tempo real;
- Estabelecer a frequência genotípica e alélica dos polimorfismos;
- Determinar a relação dos polimorfismos rs33957861 e rs1467568 com risco de obesidade em crianças e adolescentes.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Corresponde a um estudo tipo caso-controle, desenvolvido para avaliar a possível relação de obesidade na infância e polimorfismos genéticos. Foi executado em parceria do Núcleo de Pesquisas Replicon (NPR) – PUC-GO, com o Laboratório de Mutagênese (LabMut) – UFG e o Hospital da Criança.

4.2 Considerações éticas

A proposta de estudo foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUC Goiás através do CAAE: 16303313.4.0000.0037, parecer 364.512.

4.3 Grupo amostral

O estudo foi composto por 225 crianças e adolescentes com idades entre 5 e 16 anos que compareceram no consultório de endocrinologia infantil do Hospital da Criança para atendimento. O grupo amostral foi dividido em dois grupos através da análise dos parâmetros de Z-IMC, sendo o grupo de obesos, composto por 123 indivíduos e o de eutróficos, com 102 indivíduos.

Para participar do estudo, os pais ou responsáveis das crianças e adolescentes concordaram em participar da pesquisa através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Após a assinatura, pais e/ou responsáveis responderam um questionário relacionado à criança e a família, em seguida, os pacientes passaram por um exame clínico detalhado, realizado pela endocrinologista Dra. Renata Machado Pinto.

O principal critério utilizado para inclusão dos pacientes no grupo caso foi o Z-IMC ≥ 2 e ≤ 3 , e para inclusão dos pacientes no grupo controle, com peso normal, foi usado o Z-IMC ≥ -2 e < 1 . Foram estabelecidos critérios de exclusão, como: presença de síndromes genéticas, sobrepeso, patologias cujo tratamento empregue medicações que alterem o peso, desnutrição e doenças crônicas graves.

4.4 Amostras biológicas, extração e quantificação do DNA

As amostras de sangue periférico foram coletadas em parceria com o Laboratório Núcleo, por venopunção de 5mL sangue periférico contendo EDTA como anticoagulante. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas para o Núcleo de Pesquisas Replicon. Neste laboratório, foram realizadas as técnicas de extração e purificação do DNA genômico, por meio da utilização de 250 µL de sangue, com o auxílio do kit comercial AxyPrep™ Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen, EUA).

Após a extração, a quantificação foi realizada a partir da observação em espectrofotometria de luz através da avaliação da relação de absorbância (A260/A280; A260/A230) com o auxílio do quantificador NanoVue Plus® Spectrophotometer (GE Healthcare, EUA). Depois de realizados os procedimentos de extração e quantificação, o protocolo foi otimizado para execução da reação em cadeia de polimerase em tempo real para o gene *SIRT1*.

4.5 Genotipagem dos polimorfismos

4.5.1 Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR)

A técnica de amplificação de segmentos de DNA por PCR convencional, surgiu nos anos 80 através de experimentos de Kary Mullis, com o uso da enzima taq polimerase, oriunda da bactéria *Thermus aquaticus*, encontrada em fontes termais, possuindo enzimas termoestáveis e resistentes a altas temperaturas. Essa característica tornou a taq polimerase fundamental para utilização em metodologias como a PCR que envolve etapas de aquecimento a temperaturas em torno de 95°C (MULLIS, 1990; KASVI, 2021).

Com o avanço das metodologias científicas, houve o desenvolvimento da qPCR na qual é possível acompanhar a amplificação simultaneamente, através da luz emitida pelo equipamento sobre as amostras e refletida na forma de luz e calor, em comprimento de onda diferente do original. Esse método foi utilizado para fazer a genotipagem dos SNPs rs33957861 e rs1467568 do gene *SIRT1* a fim de identificar os sítios polimórficos. O equipamento utilizado capaz de detectar a fluorescência eventualmente produzida pela amostra, permitindo monitorar a reação e a apresentação dos resultados em tempo real foi o StepOne Plus™ (Thermo Fisher Scientific, EUA).

Para preparação do mix de reação foi usado o kit TaqMan Real Time PCR® (SNP Genotyping kit, Thermo Fisher Scientific, EUA) que continham as sequências senso e antisenso dos oligonucleotídeos iniciadores (primers), que auxiliaram na amplificação da sequência polimórfica específica dos SNPs, e duas sondas TaqMan® MGB, uma sonda marcada com fluoróforo VIC usada para marcar o alelo C no rs33957861 e o alelo A no rs1467568 e outra sonda com fluoróforo FAM usada para marcar o alelo T no rs33957861 e o alelo G no rs1467568 (Tabela 4).

Tabela 4. Sequência das sondas usadas na marcação dos alelos.

SNP	Sonda
rs33957861	GACTTAATTTATTTTTAGATTTTGG[C/T]TGAAACTGAGTGAGCAGAATTCCTA
rs1467568	TCCTACTCTTTCACTTAAACCCCAA[A/G]TGGCCAAGCTAGGATTGATTTGGTG

Fonte: Thermo Fisher, 2021.

As reações de qPCR foram feitas de acordo com a recomendação do fabricante dos reagentes, para um volume final de 10 µL contendo 1 µL de DNA genômico a uma concentração de 20 ng; 3,5 µL de TaqMan® Universal Master Mix (concentração 2X); 0,5 µL de *Custom TaqMan® Assay SNP Genotyping* (concentração 20X) incluindo os primers e sondas e 5 µL de Água Mili-Q.

O protocolo da termociclagem foi estabelecido em uma desnaturação inicial a 95°C por 10 min, seguidos por 40 ciclos de 95°C por 15s, ocorrendo o rompimento das pontes de hidrogênio e separação da dupla fita de DNA. Seguido por 60°C para anelamento por 30s, hibridização dos primers e extensão a 60°C por 1 min, período de ação da taq polimerase.

À medida que o material genético é amplificado, o nível de fluorescência cresce proporcionalmente ao longo dos ciclos, formando as curvas de amplificação (Figura 3).

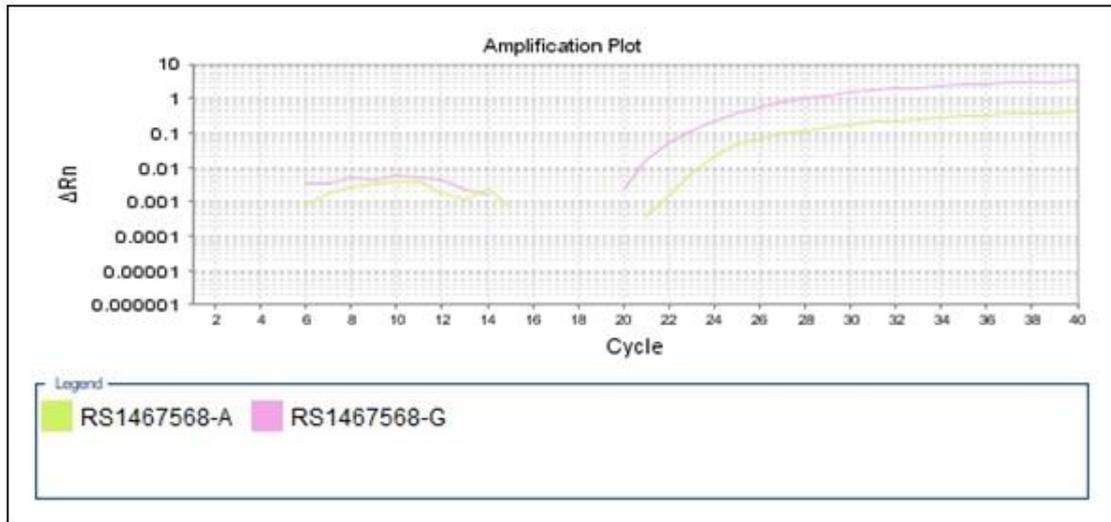


Figura 3. Representação gráfica para um heterozigoto do polimorfismo rs1467568. A curva rosa representa o alelo G e a curva verde o alelo A. Fonte: A autora.

4.6 Análise estatística

Os dados dos pacientes foram organizados e tabulados em uma planilha no Excel. Os testes estatísticos foram realizados no software SPSS 21.0. Para as análises foi considerado um Intervalo de Confiança (IC) de 95% e nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). O teste do χ^2 e o Exato de Fisher foram aplicados para comparar as frequências alélica e genotípica entre os grupos obeso e eutrófico, e determinar se as frequências estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). O teste t de Student foi realizado para comparar as médias dos descritivos entre os grupos. O teste de Regressão Logística foi aplicado para determinar a associação do alelo de risco com desenvolvimento de obesidade dos indivíduos avaliados. E o teste de Regressão Linear Múltipla (RLM) foi executado para determinar se há influência do IMC dos pais em relação ao Z-IMC dos filhos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 225 crianças e adolescentes, sendo 123 (54,7%) obesas e 102 (45,3%) eutróficas. Nos pacientes obesos, 63 (51%) foram do sexo masculino e 60 (49%) do sexo feminino, enquanto para os eutróficos 50 (49%) foram do sexo masculino e 52 (51%) do sexo feminino. A média de idade para o grupo de obesos foi de 116,4 meses e para o grupo de eutróficos 121,7 meses. As informações antropométricas como, altura, peso, Z-IMC, IMC da mãe e IMC do pai estão apresentados na Tabela 5. Para todas as variáveis foi observado diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos de obeso e eutróficos.

Tabela 5. Dados sociodemográficos e antropométricos do grupo de crianças e adolescentes obesas e eutróficas.

Variáveis	Obesos		Eutróficos		Valor de p*
	Intervalo	Média (DP)	Intervalo	Média (DP)	
Idade (meses)	60 a 203	116,4 (29,3)	65 a 196	121,7 (31,1)	0,0001
Altura (cm)	113,5 a 181,5	142,6 (13,9)	101,5 a 181,0	135,2 (15,6)	0,0001
Peso (kg)	28,3 a 140,0	55,6 (20,0)	15,9 a 75,0	30,4 (10,0)	0,0001
Z-IMC	2,0 a 7,2	3,1 (1,0)	-2,0 a 1,1	-0,4 (0,8)	0,0001
IMC mãe (kg/m²)	18,1 a 49,9	29,6 (6,3)	18,7 a 33,8	24,3 (3,3)	0,0001
IMC pai (kg/m²)	21,0 a 56,8	32,5 (6,8)	19,2 a 50,0	26,8 (4,6)	0,0001

IMC: Índice de Massa Corporal; Z-IMC: Score-Z do nível de IMC; * Teste de t Student.

A diferença observada nas médias de peso e Z-IMC já era esperada pelo fato de serem variáveis usadas na classificação dos grupos em obesos e eutróficos. A média do IMC dos pais está acima do valor normal, permeando em sobrepeso e obesidade. Para o grupo de obesos, a média de IMC da mãe e do pai mostraram-se maiores quando comparado à média do IMC no grupo de eutróficos. Os níveis elevados do IMC nos pais podem estar associados a maus hábitos alimentares, promovendo um ambiente familiar obesogênico e influenciando no desenvolvimento nutricional da criança (GALDINO *et al.*, 2020).

Para avaliar a contribuição do IMC dos pais (IMC mãe + IMC pai) com o aumento do Z-IMC dos filhos, foi realizada a análise de RLM que revelou um modelo estatisticamente significativo ($F=89,719$; $P<0,0001$; $R^2 = 0,45$), ou seja, pais e mães com maiores IMC têm filhos com Z-IMC maiores e que 45% da variabilidade do Z-IMC foi explicada pelas variáveis IMC mãe e IMC pai.

A presença de níveis elevados do IMC de pais de crianças e adolescentes, corrobora com estudos de relação da contribuição parental com o Z-IMC de filhos (MASCARENHAS *et al.*, 2013; DAL PAS *et al.*, 2019). Além do fator genético, o comportamento alimentar da criança é determinado inicialmente pela família, visto que, o estilo de vida familiar modula os hábitos da criança, sofrendo influência do ambiente de convívio (DANTAS; SILVA, 2019).

No estudo de ABU-RMEILEH e colaboradores (2008) foi avaliada a relação do IMC parental na composição da massa corporal de filhos adultos, e verificou-se que uma prevalência de sobrepeso e obesidade nos filhos e filhas de pais com IMC aumentado. A maioria dos indivíduos obesos relataram que não tinham o hábito de praticar algum tipo de atividade física, podendo promover comodidade ao sedentarismo e servir como fator de risco para o surgimento de outras doenças.

A frequência genotípica da população avaliada, do presente estudo, não apresentou-se em conformidade com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p\leq 0,05$), para o SNP rs1467568. Para o SNP rs33957861 foi aplicado o teste Exato de Fisher, devido ao número reduzido de indivíduos por genótipo.

Ao analisar a distribuição genotípica para o SNP rs33957861, foi observado que para ambos os grupos, o genótipo CC foi o de maior frequência, seguido do genótipo CT, enquanto o genótipo TT, homocigoto para o alelo de risco, não esteve presente. Em relação ao SNP rs1467568, o genótipo mais frequente foi o heterocigoto AG, tanto no grupo dos obesos quanto nos eutróficos, havendo destaque do quantitativo no grupo de obesos com 10% a mais que os eutróficos (Tabela 6), apesar dessa diferença não ter sido estatisticamente significativa.

Tabela 6. Frequência genotípica dos SNPs do gene *SIRT1* dos grupos obesos e eutróficos.

SNP	Genótipo	Obesos n (%)	Eutróficos n (%)	Valor de p
rs33957861	CC	105 (85,4%)	79 (77,5%)	0,1*
	CT	18 (14,6%)	23 (22,5%)	
	TT	0 (0%)	0 (0%)	
rs1467568	AA	20 (16,3%)	29 (28,4%)	0,07**
	AG	63 (51,2%)	42 (41,2%)	
	GG	40 (32,5%)	31 (30,4%)	

*Teste Exato de Fisher; **Teste χ^2 .

O polimorfismo rs1467568 foi avaliado em pacientes com Doença Arterial Coronária (DAC) em uma população africana com sobrepeso, a distribuição genotípica foi mais frequente para o genótipo heterozigoto e o alelo A foi o de maior frequência, mas não houve diferença significativa na distribuição das frequências e no IMC dos pacientes com DAC (RAMKARAN *et al.*, 2016).

O resultado da distribuição alélica (Tabela 7), observada no presente estudo, está em consonância com os dados publicados pelo ALFA (do inglês, *Allele Frequency Aggregator*), um projeto desenvolvido pelo NCBI, no qual possui informações de frequência alélica de algumas populações mundiais. O ALFA ainda não apresenta dados específicos da população brasileira, portanto, a população que mais se aproxima é a Latina Americana 2, com ancestrais principalmente nativos americanos e europeus.

Ao verificar a distribuição alélica, o alelo selvagem C, do SNP rs33957861, apresentou frequência maior nos dois grupos e nos dados do ALFA e ALFA América Latina 2. Em contrapartida, o alelo de risco G, do SNP rs1467568, esteve 12% mais frequente no grupo de obesos em relação ao grupo de eutróficos e 29% mais frequente nos obesos em relação a população do ALFA América Latina.

Tabela 7. Frequência alélica do gene *SIRT1* nos grupos obesos e eutróficos e dados do ALFA.

SNP	Alelo	Obesos n (%)	Eutróficos n (%)	Valor de p**	ALFA: Total	ALFA: América Latina 2
rs33957861	C	223 (92,7%)	181 (88,7%)	0,2	88,0%	83,0%
	T*	18 (7,3%)	23 (11,3%)		12,0%	17,0%
rs1467568	A	103 (41,9%)	100 (49,0%)	0,2	42,5%	58,7%
	G*	143 (58,1)	104 (51,0%)		57,5%	41,3%

* Alelo de risco; ** Teste χ^2 .

O teste de regressão logística foi aplicado a fim de buscar a associação entre o alelo de risco dos SNPs e a obesidade. Foi observado que para o SNP rs33957861 não foi verificada associação do alelo de risco T com obesidade (OR 0,6, IC 95% 0,3 - 1,2, $p \geq 0,05$). Por outro lado, um outro avaliou a associação entre polimorfismos no gene *SIRT1* e obesidade comum. Tratou-se de um estudo caso-controle, que avaliou adultos e crianças francesas com obesidade mórbida e obesidade, respectivamente. O SNP rs33957861 foi associado à obesidade nos adultos ($P = 0.006$, OR = 0.75, IC = 0.61–0.92) (CLARK *et al.*, 2012).

Para o SNP rs1467568, foi observada associação entre o alelo de risco G e a obesidade (OR 2,0, IC 95% 1,1 - 3,9, $p < 0,05$), ou seja, a presença do alelo de risco G, aumenta a chance em duas vezes do indivíduo se tornar obeso em relação aos eutróficos. De acordo com estudo de KURYLOWICZ e colaboradores (2016) não houve associação do polimorfismo rs1467568 com obesidade, porém esteve relacionado ao aumento da mortalidade de pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

Ao investigar, em uma população adulta holandesa, se variantes genéticas de *SIRT1* está associada à obesidade, foi observado que a presença do alelo A, para o polimorfismo rs1467568, esteve associado com baixos níveis de IMC, com redução de 13% a 18% no risco de obesidade (ZILLIKENS *et al.*, 2009). Contrapondo a este achado, um estudo com uma população japonesa, não encontrou associação deste polimorfismo com nefropatia diabética e com o IMC (MAEDA *et al.*, 2011).

A contribuição de fatores genéticos no aumento do ganho de peso já foi estabelecida em diferentes estudos, mas o quantitativo de risco atribuído ainda é bastante complexo e com influência do ambiente (LINHARES *et al.*, 2016; PAZ *et al.*, 2017). Com base nos achados do presente estudo, o polimorfismo *rs1467568* do gene *SIRT1* pode ser considerado um bom marcador para a obesidade pediátrica. Neste sentido, outros estudos com maiores populações pediátricas e esta variante polimórfica são necessários, a fim de confirmar o impacto deste polimorfismo para a suscetibilidade à obesidade.

Por outro lado, o SNP *rs33957861* não foi associado à obesidade, diferenças étnicas podem contribuir para a discrepância do nosso estudo com estudos em outras populações, e, portanto, estudos com maior número de crianças brasileiras obesas devem ser conduzidos para elucidar o real papel deste polimorfismo e sua influência no desenvolvimento da obesidade pediátrica. Considerando que a obesidade comum é uma condição multifatorial e poligênica, a avaliação destes SNPs, juntamente com outros SNPs no gene *SIRT1* e em outros genes candidatos, pode demonstrar o papel do SNP *rs33957861* em associação com outros SNPs, podendo ser marcadores para uma variante causadora, especialmente SNPs localizados em regiões intrônicas como.

6. CONCLUSÕES

- O sexo masculino foi predominante (51%) no grupo de obesos e o IMC dos pais, dos pacientes obesos, variou em sobrepeso e obesidade;
- Há contribuição parental no aumento do Z-IMC dos filhos;
- A PCR em tempo real foi fundamental para a genotipagem em ambos os grupos avaliados;
- Para ambos os SNPs não foi observado diferença estatisticamente significativa entre os grupos;
- O alelo selvagem C (rs33957861) e o alelo de risco G (rs1467568) foram mais frequentes nos dois grupos estudados;
- Foi verificada associação do alelo de risco G (rs1467568) com obesidade na população de crianças e adolescentes que participaram do estudo.

REFERÊNCIAS

ABU-RMEILEH, N. M. E.; HART, C. L.; MCCONNACHIE, A.; UPTON, M. N.; LEAN, M. E. J.; WATT, G. C. M. Contribution of midparental BMI and other determinants of obesity in adult offspring. **Obesity**, v. 16, n. 6, p. 1388-1393, 2008.

BESERRA, J. B.; SOARES, N. I. DA S.; MARREIROS, C. S.; CARVALHO, DE C. M. R. G.; MARTINS, M. DO C. DE C.; FREITAS, B. DE J. E S. DE A.; SANTOS, M. M.; FROTA, K. DE M. G. Crianças e adolescentes que consomem alimentos ultraprocessados possuem pior perfil lipídico? Uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 4979-4989, 2020.

BRASIL. Obesidade infantil é tema do programa Salto para o Futuro. **Ministério da Educação (MEC)**. Acesso em: 23/08/2021. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/component/tags/tag/obesidade-infantil>

BRASIL. Relatórios do Estado nutricional dos indivíduos acompanhados por período, fase do ciclo da vida e índice. **Ministério da Saúde. Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional**. Acesso em: 30/08/2021. Disponível em: <https://sisaps.saude.gov.br/sisvan/relatoriopublico/estadonutricional>

BRASIL. Boletim Telessaúde BA - Obesidade infantil. **Secretaria de Saúde da Bahia**. Acesso em: 03/09/2021. Disponível em: http://telessaude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2021/03/20210322_Boletim-Telessa%C3%BAde-marco-21.pdf

BRASIL. Obesidade infantil afeta 3,1 milhões de crianças menores de 10 anos no Brasil. **Ministério da Saúde**. Acesso em: 30/08/2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/obesidade-infantil-afeta-3-1-milhoes-de-criancas-menores-de-10-anos-no-brasil>

CLARK, S. J.; FALCHI, M.; OLSSON, B.; JACOBSON, P.; CAUCHI, S.; BALKAU, B.; MARRE, M.; LANTIERI, O.; ANDERSSON, J. C.; JERNAS, M.; AITMAN, T. J.; RICHARDSON, S.; SJÖSTRÖM, L.; WONG, H. Y.; CARLSSON, L. M. S.; FROGUEL, P.; WALLEY, A. J. Association of sirtuin 1 (SIRT1) gene SNPs and transcript expression levels with severe obesity. **Obesity**, v. 20, n. 1, p. 178-185, 2012.

COSTA, L. R.; MUELLER, M. E. DE O.; FRAUCHES, J. P.; CAMPOS, N. B.; OLIVEIRA, L. S.; GENTILIN, K. F.; MELLO, A. L. F. E P. Child obesity and quarantine: obese children have greater risk for COVID-19. **Residência Pediátrica**, v. 10, n. 2, p. 331, 2020.

COSTA, D. A.; ALMEIDA, A. A.; NEVES, B. R.; FARIA, L. B.; ALVES, M. L. F. N.; MUNIZ, T. A.; MOREIRA, M. E. DE C. Repercussões clínicas, endócrinas e psicológicas da Obesidade infantil: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 83068-83083, 2021.

DAL PAS, K.; SODER, T. F.; DEON, R. G. Percepção dos pais: meu filho tem obesidade infantil?. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, p. 20-26, 2019.

DANTAS, R. R.; SILVA, G. A. P. O papel do ambiente obesogênico e dos estilos de vida parentais no comportamento alimentar infantil. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 37, p. 363-371, 2019.

FERRARI, G. L. DE M.; VICTO, E. R.; MATSUDO, V. K. R. Estudo internacional de Obesidade infantil, estilo de vida e ambiente (ISCOLE) Brasil. **Diagn. tratamento**, p. [109-115], 2018.

GALDINO, S. A. M.; GALDINO, S. M.; RODRIGUES, C. S. S.; QUEIROZ, M. G.; GUIMARÃES, A. L. V.; TEIXEIRA, A.; FURTADO, J. G. C.; SALES, L. L. DA S. Influência do ambiente familiar no tratamento de obesidade em crianças e adolescentes: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 89478-89484, 2020.

GINETE, A. C. H. **Genética da obesidade: estudo de marcadores moleculares**. Lisboa, 2020. p. 1. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Moleculares em Saúde). Instituto Politécnico de Lisboa - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa.

GHOSH, S.; BOUCHARD, C. Convergence between biological, behavioural and genetic determinants of obesity. **Nature Reviews Genetics**, v. 18, n. 12, p. 731-748, 2017.

HUSSEIN, R.; MOHAMMED, R.; AHMED, I. Psychological impact of obesity in children. **The Scientific Journal of Al-Azhar Medical Faculty, Girls**, v. 4, n. 1, p. 17, 2020.

KASVI. PCR em Tempo Real (qPCR): Aplicação no diagnóstico de Doenças. **KASVI**, 2021.

Acesso em: 17/09/2021. Disponível em: <https://kasvi.com.br/pcr-em-tempo-real-qpcr-diagnostico-doencas/>

KAUR, Y.; DE SOUZA, R. J.; GIBSON, W. T.; MEYRE, D. A systematic review of genetic syndromes with obesity. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 6, p. 603-634, 2017.

KILIC, U.; GOK, O.; BACAKSIZ, A.; IZMIRLI, M.; CAN, B. E.; UYSAL, O. SIRT1 gene polymorphisms affect the protein expression in cardiovascular diseases. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e90428, 2014.

KILIC U.; GOK O.; ELIBOL-CAN B.; OZGEN IT.; ERENBERK U.; UYSAL O.; DUNDAROV MR. SIRT1 gene variants are related to risk of childhood obesity. **European journal of pediatrics**, v. 174, n. 4, p. 473-479, 2015.

KURYLOWICZ, A. In search of new therapeutic targets in obesity treatment: sirtuins. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 4, p. 572, 2016.

LAGOUGE, M.; ARGMAN, C.; GERHART-HINES, Z.; MEZIANE, H.; LERIN, C.; DAUSSIN, F.; Messadeq, N.; MILNE, J.; LAMBERT, P.; ELLIOTT, P.; GENY, B.; LAAKSO, M.; PUIGSERVER, P.; AUWERX, J. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . **Cell**, v. 127, n. 6, p. 1109-1122, 2006.

LENHARE, L. **Efeito da obesidade sobre a s-nitrosação da SIRT1 no tecido hepático e no músculo esquelético de camundongos**. Campinas, 2018. p. 21. Tese - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica - Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Estadual de Campinas.

LEE M.; CHOI S.; LEE Y.; OH HH. The Gender Association of the SIRT1 rs7895833 Polymorphism with Pediatric Obesity: A 3-Year Panel Study. **Lifestyle Genomics**, v. 9, n. 5-6, p. 265-275, 2016.

LINHARES, F. M. M.; SOUSA, K. M. DE O.; MARTINS, E. DA N. X.; BARRETO, C. C. M. Obesidade infantil: influência dos pais sobre a alimentação e estilo de vida dos filhos. **Temas em saúde**, v. 16, n. 2, p. 460-481, 2016.

LOPES, I. M.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M. J.; MARTÍNEZ, A. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 327-338, 2004.

MAEDA, S.; KOYA, D.; ARAKI, S.; BABAZONO, T.; UMEZONO, T.; TOYODA, M.; KAWAI, K.; IMANISHI M.; UZU, T.; SUZUKI, D.; MAEGAWA, H.; KASHIWAGI, A.; IWAMOTO, Y.; NAKAMURA, Y. Association between single nucleotide polymorphisms within genes encoding sirtuin families and diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes. **Clinical and experimental nephrology**, v. 15, n. 3, p. 381-390, 2011.

MASCARENHAS, L. P. G.; MODESTO, M. J.; AMER, N. M.; BOGUSZEWSKI, M. C. S.; FILHO, L. DE L.; PRATI, F. S. Influência do excesso de peso dos pais em relação ao sobrepeso e obesidade dos filhos. **Pensar a Prática**, v. 16, n. 2, 2013.

MELO, M.E. Diagnóstico da obesidade infantil. **Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica – ABESO**. Acesso em: 04/09/2021. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/pdf/artigo%20fev%20.2011.pdf>

MENEGUETTE, M. V. D. O.; OLIVEIRA, C. A. D.; LIMA, M. H. D. M.; PINA, K. N.; AMARAL, M. E. C. D. Polymorphism in the SIRT1 gene and parameters of metabolic syndrome in a sample of the adult Brazilian population. **Revista de Nutrição**, v. 29, p. 1-10, 2016.

MOREIRA, M. DE S. F.; OLIVEIRA, F. M. DE; RODRIGUES, W.; OLIVEIRA, L. C. N. DE; MITIDIERO, J.; FABRIZZI, F.; BERNARDO, D. N. A. Doenças associadas à obesidade infantil. **Rev. Odontol. Araçatuba (Online)**, p. 60-66, 2014.

MOSCA, P. R. F.; SILVEIRA, P. P.; WERLANG, I. C. R.; GOLDANI, M. Z. Obesidade e genética. **Revista HCPA**. Porto Alegre. Vol. 32, n. 3 (jul./set. 2012), p. 318-331, 2012.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, v. 262, n. 4, p. 56-65, 1990.

NETO, A. S.; BOZZA, R.; ULBRICH, A.; MASCARENHAS, L. P. G.; BOGUSZEWSKI, M. C. DA S.; DE CAMPOS, W.. Síndrome metabólica em adolescentes de diferentes estados nutricionais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, p. 104-109, 2012.

OLIVEIRA, L. M. DE. **Estudos genômicos de flexibilidade e energia livre associados à distribuição de SNPs**. Ouro Preto, 2011. p. 7. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Universidade Federal de Ouro Preto.

OLIVEIRA, L. V. A.; SANTOS, B. N. S. D.; MACHADO, Í. E.; MALTA, D. C.; MELENDEZ, G. V.; MENDES, M. S. F. Prevalência da Síndrome Metabólica e seus componentes na população adulta brasileira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 4269-4280, 2020.

PAZ, C. P.; CARVALHO, M. J. S. B.; LEAL, R. DE S. L. R.; PARENTE, D. M. Obesidade: considerações sobre os fatores genéticos. **Revista Interdisciplinar Ciências e Saúde-RICS**, v. 4, n. 2, p. 106-112, 2017.

PEDERSEN, S. B.; ØLHOLM, J.; PAULSEN, S.K.; BENNETZEN, M.F.; RICHELSEN, B. Low Sirt1 expression, which is upregulated by fasting, in human adipose tissue from obese women. **International Journal of Obesity**, v. 32, n. 8, p. 1250-1255, 2008.

PEETERS, A. V.; BECKERS, S.; VERRIJKEN, A. MERTENS, I.; ROEVENS, P.; PEETERS, P. J.; HUL, W. V.; GAAL, L. F. V. Association of SIRT1 gene variation with visceral obesity. **Human genetics**, v. 124, n. 4, p. 431, 2008.

PEREIRA, R. A relação entre Dislipidemia e Diabetes Mellitus tipo 2. **Cadernos UniFOA**, v. 6, n. 17, p. 89-94, 2017.

PINTO, R. M. **Estudo de associação entre obesidade na infância e os SNPs TaqIA C32806T do gene DRD2 e G308A do gene TNF- α** . Goiânia, 2014. p. 1. Dissertação (Mestrado em Genética - MGene) - Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa (PROPE). Programa de Graduação Strictu-Sensu. Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

QUEIROZ, J. C. F. D.; VALE, M. I. C. A.; CURI, R.; LIMA, F. B. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, p. 582-594, 2009.

RAMKARAN, P.; KHAN, S.; MOODLEY, D.; CHUTURGOON, A. A.; PHULUKDAREE, A. Sirtuin 1 rs1467568 and rs7895833 in South African Indians with early-onset coronary artery disease. **Cardiovascular journal of Africa**, v. 27, n. 4, p. 213-217, 2016.

RAMOS, A. V. **A contribuição dos polimorfismos (SNPs) do FTO e UCP-1 com a obesidade extrema e fatores de risco cardiovascular em indivíduos brasileiros**. Belo Horizonte, 2011. p. 8. Tese - Programa de Pós-graduação em Medicina Molecular. Universidade Federal de Minas Gerais.

REIS, B. F. DOS. **Análise cromossômica por microarray em pacientes com deficiência intelectual associada à obesidade**. Brasília, 2015. p. 23. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências da Saúde - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade de Brasília.

ROBINSON, N.; BROWN, H.; ANTOUN, E.; GODFREY, K. M.; HANSON, M. A.; LILLYCROP, K. A.; CROZIER, S. R.; MURRAY, R.; PEARCE, M. S.; RELTON, C. L.; ALBANI, V.; MCKAY, J. A. Childhood DNA methylation as a marker of early life rapid weight gain and subsequent overweight. **Clinical epigenetics**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2021.

ROHDE, K.; KELLER, M.; POULSEN, L. L. C.; BLÜHER, M.; KOVACS, P.; BÖTTCHER, Y. Genetics and epigenetics in obesity. **Metabolism**, v. 92, p. 37-50, 2019.

SCHMIDT, L.; SODER, T. F.; BENETTI, F. Nutrigenômica como ferramenta preventiva de doenças crônicas não transmissíveis. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 23, n. 2, p. 127-138, 2019.

SILVA, I. S. DOS S.; PONTES, E. D. S.; DA SILVA, M. C. C.; SILVA, E. C. A. Nutrigenômica e sua Correlação com a Obesidade. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, p. Trab556, 2018.

THERMO FISHER. SNP Genotyping Analysis Using TaqMan Assays. **Thermo Fisher Scientific**. Acesso em: 03/12/2021. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-assays/snp-genotyping-taqman-assays.html>

VAN DEN BERG, S. W.; DOLLÉ, M. E. T.; IMHOLZ, S.; VAN DER A; D. L.; VAN 'T SLOT, R.; WIJMENGA, C.; VERSCHUREN, W. M. M.; STRIEN, C.; SIEZEN, C. L. E.; HOEBEE, B.; FESKENS, E. J. M.; BOE, J. M. A. Genetic variations in regulatory pathways of fatty acid and glucose metabolism are associated with obesity phenotypes: a population-based cohort study. **International journal of obesity**, v. 33, n. 10, p. 1143-1152, 2009.

WANG, J.; MEI, H.; CHEN, W.; JIANG, Y.; SUN, W.; LI, F.; FU, Q.; JIANG, F. Study of eight GWAS-identified common variants for association with obesity-related indices in Chinese children at puberty. **International Journal of Obesity**, v. 36, n. 4, p. 542-547, 2012.

WHO. Noncommunicable diseases: Childhood overweight and obesity. **World Health Organization**. Acesso em: 03/09/2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/noncommunicable-diseases-childhood-overweight-and-obesity>

WHO. WHO guideline: Management of infants and children at high risk (excessive adiposity) and children with obesity for improved health, functioning and reduced disability: a primary health care approach. **World Health Organization**. Acesso em: 23/08/2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/events/detail/2021/09/22/default-calendar/2nd-GDG-meeting-management-of-infants-and-children-at-high-risk-\(excessive-adiposity\)-and-children-with-obesity-for-improved-health-functioning-and-reduced-disability-a-primary-health-care-approach](https://www.who.int/news-room/events/detail/2021/09/22/default-calendar/2nd-GDG-meeting-management-of-infants-and-children-at-high-risk-(excessive-adiposity)-and-children-with-obesity-for-improved-health-functioning-and-reduced-disability-a-primary-health-care-approach)

ZILLIKENS, M. C.; MEURS, J. B.J. V.; RIVADENEIRA, F.; AMIN, N.; HOFMAN, A.; OOSTRA, B. A.; SIJBRANDS, E. J.G.; WITTEMAN, J. C. M.; POLS, H. A.P.; DUIJN, C. M. V.; UITTERLINDEN, A. G. SIRT1 genetic variation is related to BMI and risk of obesity. **American Diabetes Association**. v. 58, n. 12, p. 2828-2834, 2009.

APÊNDICE



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
Av. Universitária, 1069 | Setor Universitário
Caixa Postal 86 | CEP 74605-010
Goiânia | Goiás | Brasil
Fone: (62) 3946.1020 ou 1021 | 0
www.pucgoias.edu.br | prograd@pucgoias.edu.br

RESOLUÇÃO n° 038/2020 – CEPE

ANEXO I APÊNDICE ao TCC

Termo de autorização de publicação de produção acadêmica

O(A) estudante Raissa Fidélcio de Souza do Curso de Ciências Biológicas Bacharelado, matrícula 20172005000320, telefone: (64)99242973 e-mail raissafidelcio28@gmail.com, na qualidade de titular dos direitos autorais, em consonância com a Lei n° 9.610/98 (Lei dos Direitos do autor), autoriza a Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) a disponibilizar o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado Polimorfismos genéticos do gene *SIRT1* e risco para obesidade pediátrica, gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, por 5 (cinco) anos, conforme permissões do documento, em meio eletrônico, na rede mundial de computadores, no formato especificado (Texto (PDF); Imagem (GIF ou JPEG); Som (WAVE, MPEG, AIFF, SND); Vídeo (MPEG, MWV, AVI, QT); outros, específicos da área; para fins de leitura e/ou impressão pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada nos cursos de graduação da PUC Goiás.

Goiânia, 18 de novembro de 2021.

Assinatura do autor: Raissa Fidélcio de Souza

Nome completo do autor: Raissa Fidélcio de Souza

Assinatura do professor-orientador: Lysa Bernardes Minasi

Nome completo do professor-orientador: Lysa Bernardes Minasi