

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**RELAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL COM O  
POLIMORFISMO rs9939609 (gene FTO) NO  
INTERVALO DE TRÊS ANOS DE CRIANÇAS E  
ADOLESCENTES**

TESE DE DOUTORADO

ÉBONI MARÍLIA REUTER

Porto Alegre, Brasil

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO  
ADOLESCENTE

**RELAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL COM O  
POLIMORFISMO rs9939609 (gene FTO) NO  
INTERVALO DE TRÊS ANOS DE CRIANÇAS E  
ADOLESCENTES**

ÉBONI MARÍLIA REUTER

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutora.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Elza Daniel de Mello**

Porto Alegre, Brasil

2019

### CIP - Catalogação na Publicação

Reuter, Éboni Marília  
RELAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL COM O POLIMORFISMO  
rs9939609 (gene FTO) NO INTERVALO DE TRÊS ANOS DE  
CRIANÇAS E ADOLESCENTES / Éboni Marília Reuter. --  
2019.  
104 f.  
Orientadora: Elza Daniel de Mello.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,  
Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Criança. 2. Adolescente. 3. Polimorfismo de  
Nucleotídeo Único. 4. Estado Nutricional. 5.  
Obesidade. I. Mello, Elza Daniel de, orient. II.  
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO**  
**ADOLESCENTE**

ESTA TESE FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

29 / 04 / 2019

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Clécio Homrich da Silva  
Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Leandro Meirelles Nunes  
Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dra. Juliana Paludo Vallandro  
Escola de Ciências da Saúde – Curso de Nutrição  
Centro Universitário Ritter dos Reis

*Para Bruno, Chanel e Tolstoi.*

## AGRADECIMENTOS

À orientadora Elza Daniel de Mello, sou grata pela acolhida que foi proporcionada desde o primeiro instante. Agradeço a leitura ímpar na área da pediatria e por se manter receptiva durante todo o processo.

À Cézane Priscila Reuter, pela contribuição, sempre valiosa e indispensável. Sou grata por compartilhar ideias e conhecimentos, além de amizade e companheirismo.

À Miria Suzana Burgos (*in memoriam*), por ter incentivado à pesquisa, proporcionando condições para que o doutorado fosse uma realidade.

Aos bolsistas e pesquisadores da linha de pesquisa “Saúde dos Escolares”, desenvolvido na Universidade de Santa Cruz do Sul, os quais estiveram envolvidos nas coletas e registro dos dados. Também agradeço aos escolares e responsáveis pelas escolas que aceitaram participar das pesquisas e foram peça fundamental nesse processo.

À Donangela Sirlene Rachor, por sempre ter me conduzido na busca de conhecimento.

Ao Bruno de Castro Lino, por ser companhia e aconchego em todos os momentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e Adolescente, especialmente as secretárias, as quais sempre forneceram as informações e orientaram para o que fosse necessário.

## RESUMO

**Introdução:** Como enfermidade multifatorial, a obesidade resulta da interação do ambiente, do comportamento e da genética. A genética é um fator não-modificável, sendo o polimorfismo de nucleotídeo simples rs9939609 relacionado com a obesidade, especialmente em caucasianos. Estudos indicam que esta relação pode variar conforme a idade, com uma influência desde a infância. Entretanto, não está estabelecido como o alelo A, fator de risco à obesidade, se comporta ao longo do tempo, especialmente na transição da infância para a adolescência, em relação a marcadores de obesidade e obesidade central. **Objetivo:** Avaliar a relação entre o estado nutricional e o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) de crianças e adolescentes em um intervalo de três anos. **Método:** Estudo longitudinal, retrospectivo, conduzido em um município do interior do Rio Grande do Sul - Brasil. Escolares de 7 a 17 anos de idade, que participaram da avaliação em 2011/12 e retornaram em 2014/15, compuseram a amostra. Foram selecionados sujeitos com dados completos de caracterização sociodemográfica, de antropometria e composição corporal e do polimorfismo rs9939609. Foram selecionados os valores e as classificações da circunferência da cintura (CC), razão cintura-estatura (RCE), índice de massa corporal (IMC) e percentual de gordura corporal (%G). O polimorfismo rs9939609 (gene FTO), foi genotipado pela técnica da cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, sendo definido os genótipos TT e AT/AA. A presença do alelo A foi considerado como fator de risco para obesidade. Em uma primeira etapa, a análise constou de comparações intergrupo (entre os genótipos) e intragrupo (entre os períodos), com o uso do teste de Mann-Whitney e Wilcoxon (dados contínuos), bem como qui-quadrado e Wilcoxon (categóricos). Em uma segunda etapa, foi avaliada a evolução dos escolares nos períodos quanto a presença de obesidade, pelo teste de McNemar. Para identificar associação entre a obesidade e o polimorfismo, foi calculado o risco relativo (RR), pela regressão de Poisson com variância robusta. O modelo foi ajustado para sexo, cor da pele, região escolar e estágio puberal. **Resultados:** Em comparações intergrupo, em 2014/15 foi identificado que escolares com alelo A apresentaram maior ocorrência de alto risco cardiovascular avaliado pela CC (TT: 15,8%; AT/AA: 27,5%,  $p=0,011$ ). Neste período, o RR de escolares com genótipo AT/AA apresentarem CC correspondente a obesidade foi 1,49 (IC 95% 1,01-2,20), aumentando para 1,87 no modelo ajustado (IC 95% 1,19-2,92). O risco de desenvolver ou manter CC elevada foi maior naqueles com alelo de risco, sendo o RR de 1,66 (IC 95% 1,07-2,58). O risco permaneceu, em menor intensidade, quando ajustado para variáveis confundidoras (RR ajustado: 1,11; IC 95% 1,03-1,20). Não foram identificadas diferenças nas comparações e associações para os demais marcadores do estado nutricional. **Conclusões:** Os achados revelam que há relação entre o estado nutricional e o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em crianças e adolescentes. A presença do alelo A, homozigoto ou heterozigoto, está associada a obesidade central, expressada pelos valores de CC, podendo ser um preditor no aumento da gordura abdominal na população infantojuvenil.

**Palavras-chave:** Criança; Adolescente; Polimorfismo de Nucleotídeo Único; Estado Nutricional; Obesidade

## ABSTRACT

**Introduction:** As a multifactorial disease, obesity results from environment, behavior and genetics interaction. Genetics is a non-modifiable factor, with simple nucleoside polymorphism rs9939609 related to obesity, especially in caucasian. Studies indicate that this relationship may vary with age, with an influence from childhood. However, it's not established how allele A, an obesity risk factor, behaves over time, especially from childhood to adolescence transition, in relation to markers of obesity and central obesity. **Objective:** To evaluate the relationship between nutritional status and rs9939609 (FTO gene) polymorphism in children and adolescents at a three-year interval. **Method:** Longitudinal study, retrospective, conducted in a municipality in interior of Rio Grande do Sul - Brazil. Schoolchildren aged 7 to 17 years old, who participated in the evaluation in 2011/12 and returned in 2014/15, composed the sample. Subjects with complete data of sociodemographic characterization, anthropometry and body composition and rs9939609 polymorphism were selected. Values and classifications of waist circumference (WC), waist-to-height ratio (WHtR), body mass index (BMI) and percentage of body fat (BF%) were selected. The rs9939609 polymorphism (FTO gene), was genotyped by real-time polymerase chain reaction (PCR) technique, with TT and AT/AA genotypes defined. Presence of A allele was considered an obesity risk factor. In a first step, the analysis consisted of intergroup comparisons (between genotypes) and intragroup (between periods), using the Mann-Whitney and Wilcoxon test (continuous data), as well as chi-square and Wilcoxon (categorical). In a second stage, was evaluated schoolchildren evolution at the periods regarding obesity presence by McNemar test. To identify association between obesity and polymorphism, relative risk (RR) was calculated by Poisson regression with robust variance. The model was adjusted for gender, skin color, school region and pubertal stage. **Results:** In intergroup comparisons, in 2014/15 it was identified that schoolchildren with allele A had a higher occurrence of cardiovascular risk assessed by WC (TT: 15.8%, AT/AA: 27.5%,  $p=0.011$ ). In this period, RR of schoolchildren with AT/AA genotype presented WC corresponding to obesity was 1.49 (95% CI 1.01-2.20), increasing to 1.87 in adjusted model (95% CI 1.19- 2.92). Risk of developing or maintaining high WC was higher in those with risk alleles, with RR 1.66 (95% CI 1.07-2.58). Risk remains, to a lesser intensity, when adjusted for confounding variables (adjusted RR: 1.11, 95% CI 1.03-1.20). No differences in comparisons and associations were identified for other nutritional status markers. **Conclusions:** Findings reveal that there is a relationship between nutritional status and rs9939609 polymorphism (FTO gene) in children and adolescents. Allele A presence, homozygous or heterozygous, is associated with central obesity, expressed by WC values, and may be a predictor of increased abdominal fat in infant and juvenile population.

**Keywords:** Child; Adolescent; Polymorphism, Single Nucleotide; Nutritional Status; Obesity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### **Português**

Figura 1 – Fluxograma de composição da amostra final de escolares de um município do Sul do Brasil .....	41
--	----

### **Inglês**

Figure 1 – Flow diagram for final sample composition of schoolchildren in a city in southern Brazil .....	56
---	----

## LISTA DE TABELAS

### Português

Tabela 1 – População e amostra dos alunos de Santa Cruz do Sul .....	26
Tabela 1 – Variáveis demográficas e polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em dois períodos, em escolares do Sul do Brasil.....	44
Tabela 2 – Comparação intergrupos e intragrupos dos genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO), quanto às variáveis do estado nutricional, em escolares do Sul do Brasil .....	45
Tabela 3 – Comparação intragrupo dos genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO), para os períodos quanto ao Z-score das variáveis antropométricas e de composição corporal, em escolares do Sul do Brasil.....	46
Tabela 1 – Comparação da classificação das variáveis antropométricas e de composição corporal entre 2011/12 e 2014/15, de acordo com os genótipos para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em escolares do Sul do Brasil.....	83
Tabela 2 – Risco relativo de obesidade considerando a circunferência da cintura em escolares com e sem a presença do alelo de risco para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em escolares do Sul do Brasil.....	83
Tabela 3 – Risco relativo de obesidade considerando a relação cintura-estatura em escolares com e sem a presença do alelo de risco para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em escolares do Sul do Brasil .....	84

### Inglês

Table 1 – Demographic variables and rs9939609 polymorphism (FTO gene), at two time periods, in schoolchildren from Southern Brazil.....	59
---	----

Table 2 – Intergroup and intragroup comparison of genotypes rs9939609 polymorphism (FTO gene), as nutritional status, in schoolchildren from Southern Brazil.....	60
Table 3 – Intragroup comparison of genotypes rs9939609 polymorphism (FTO gene), for periods as to Z-score of anthropometric and body composition variables, in schoolchildren from Southern Brazil.....	61
Table 1 – Comparison of anthropometric variables and body composition classification between 2011/12 and 2014/15, according to genotypes for polymorphism rs9939609 (FTO gene), in schoolchildren from southern Brazil.....	96
Table 2 – Relative risk of obesity considering waist circumference in schoolchildren with and without presence of risk allele for rs9939609 polymorphism (FTO gene), in schoolchildren from southern Brazil.....	96
Table 3 – Relative risk of obesity considering waist-to-height ratio in schoolchildren with and without presence of risk allele for rs9939609 polymorphism (FTO gene) in schoolchildren from southern Brazil.....	97

## LISTA DE SIGLAS

CC	Circunferência da cintura
FTO	<i>Fat mass and obesity associated gene</i>
IMC	Índice de massa corporal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RCE	Razão cintura-estatura
SNPs	Polimorfismos de um nucleotídeo único
UNISC	Universidade de Santa Cruz do Sul
%G	Percentual de gordura

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
2.1	EXCESSO DE PESO NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA .....	14
2.2	MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES .....	15
2.3	GENE FTO .....	18
<b>2.3.1</b>	<b>Polimorfismo rs9939609.....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
4.1	OBJETIVO GERAL .....	24
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>5</b>	<b>HIPÓTESE DE TRABALHO.....</b>	<b>25</b>
<b>6</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>26</b>
6.1	POPULAÇÃO E AMOSTRA .....	26
6.2	DELINEAMENTO .....	27
6.3	TAMANHO AMOSTRAL .....	27
6.4	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE COLETA .....	28
6.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	30
6.6	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	31
6.7	RECURSOS HUMANOS E INFRAESTRUTURA .....	32
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>
<b>8</b>	<b>ARTIGOS ORIGINAIS .....</b>	<b>37</b>
8.1	ARTIGO ORIGINAL 1 – PORTUGUÊS.....	37

8.2	ARTIGO ORIGINAL 1 – INGLÊS.....	54
8.3	ARTIGO ORIGINAL 2 – PORTUGUÊS.....	69
8.4	ARTIGO ORIGINAL 2 – INGLÊS.....	85
<b>9</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>98</b>
<b>10</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>99</b>
	<b>ANEXO A – CARTA DE AUTORIZAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO DOS DADOS</b>	<b>100</b>
	<b>ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO DA PESQUISA NO COMITÊ DE</b>	
	<b>ÉTICA EM PESQUISA .....</b>	<b>101</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A obesidade apresenta relevância na atualidade pelo aumento de sua prevalência, em países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo que o Brasil está entre os dez países que concentram mais de 50% dos 671 milhões de obesos (NG *et al.*, 2014). A ascensão desta condição em crianças e adolescentes é evidenciada em diversos estudos (TZOTZAS *et al.*, 2011; ISASI *et al.*, 2011; OSTOJIC *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2010; IBGE, 2010) e descrita como um dos desafios da saúde pública do século 21 (WHO, 2016a).

O sobrepeso e a obesidade, quando presentes na faixa etária pediátrica, tendem a permanecer na vida adulta. Além do próprio excesso de peso, também estão mais propensos a desenvolver prematuramente comorbidades como diabetes melito tipo 2, doenças cardiovasculares, alterações musculoesqueléticas, alguns tipos de câncer e outras incapacidades (WHO, 2014), bem como problemas sociais e psicológicos (CDC, 2015a).

Como condição multifatorial, a obesidade é resultado de interações complexas, incluindo causas genéticas, comportamentais e ambientais. O efeito da genética, bem como quais genes estão relacionados ao excesso de peso, ainda não estão esclarecidos. No entanto, já se sabe que o gene FTO (*fat mass and obesity associated gene*), especialmente o polimorfismo rs9939609, é constantemente relacionado com a presença de obesidade, tendo como genótipo de risco o alelo A. O que ainda não está definido é como este fator de risco influencia as tendências longitudinais do padrão antropométrico (MEI *et al.*, 2010; ELKS *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013). No Brasil, já se tem estudado, em diversas regiões, a associação entre o polimorfismo rs9939609 e o índice de massa corporal (IMC), com os achados direcionando para uma relação entre o genótipo de risco e o excesso de peso (SILVA *et al.*, 2013; LOURENÇO *et al.*, 2014; MORAES *et al.*, 2016; REUTER *et al.*, 2016). Entretanto, os resultados dos estudos anteriores não são concordantes (PEREIRA *et al.*, 2016).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 EXCESSO DE PESO NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA

A obesidade infantil tem sido tema de pesquisas no mundo, devido ao incremento de sua prevalência, com efeitos a curto e longo prazo, e consequências para a saúde individual e pública (WANG *et al.*, 2013; NG *et al.*, 2014; CDC, 2015a). Entre os efeitos individuais a curto prazo para crianças e adolescentes, há a maior probabilidade de existir um fator de risco para doenças cardiovasculares, como elevação dos níveis séricos de colesterol e hipertensão arterial sistêmica, de desenvolver diabetes melito, problemas ósseos e articulares, apneia do sono, bem como prejuízos psicológicos e sociais. A longo prazo, aumenta a propensão de crianças e adolescentes a se manterem como obesos na vida adulta, e conseqüentemente, apresentarem precocemente morbidades cardiovasculares e câncer, podendo levar a morte prematura e incapacidade na vida adulta (SILVA *et al.*, 2013). As alterações musculoesqueléticas estão associadas à presença de dor, desconforto, redução da mobilidade articular e osteoartrite (WEARING *et al.*, 2006; CDC, 2015a; WHO, 2016a). Uma vez que o excesso de peso, e todas as condições decorrentes dele, são evitáveis, a prevenção deve ser estimulada (WHO, 2016a).

Nos últimos 30 anos, há relatos que a prevalência de obesidade duplicou em crianças e quadruplicou em adolescentes (CDC, 2015a), sendo a ocorrência superior em países em desenvolvimento (WHO, 2014). Na China, entre escolares de 6 a 19 anos de idade, foram identificados 17,7% com sobrepeso e 14,4% com obesidade, quando utilizados os pontos de corte do padrão chinês (WU; LI; ZONG, 2016). Na Grécia, em crianças de 6 a 12 anos de idade, a frequência de excesso de peso para meninos foi 31,2% e para meninas foi 26,5% (TZOTZAS *et al.*, 2011). Crianças e adolescentes sérvios apresentaram frequências de excesso de peso de 38,3% para o sexo masculino e 40,4% para o sexo feminino (OSTOJIC *et al.*, 2011). Já em

adolescentes ingleses, na faixa etária de 13-15 anos de idade, 19,7% apresentaram sobrepeso e 7,5% obesidade (JACKSON *et al.*, 2015).

No Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística refere que crianças de 5-9 anos de idade apresentaram uma prevalência de sobrepeso de 33,5% e obesidade de 14,3%. Foram identificadas frequências superiores na zona urbana e nas Regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste. Em adolescentes, sendo estes considerados aqueles com 10-19 anos de idade, os índices foram de 20,5% para sobrepeso e 4,9% para obesidade, havendo uma redução progressiva dos percentuais com o aumento dos estratos das faixas etárias. As maiores ocorrências, considerando os espaços geográficos (zona e regiões), foram semelhantes ao padrão identificado nas crianças. Quanto a tendência secular, tanto em crianças quanto em adolescentes, a prevalência de excesso de peso aumentou progressivamente nas quatro avaliações, compreendendo um período de 1974 a 2009 (IBGE, 2010).

Em Santa Cruz do Sul, na Região Sul do Brasil, 40,0% dos avaliados foram considerados com excesso de peso, em uma avaliação transversal que incluiu 2.335 crianças e adolescentes com idades entre 7 e 17 anos, no período de 2014/15 (REIS *et al.*, 2017).

## 2.2 MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

Entre as técnicas empregadas na avaliação da gordura corporal em humanos, há um conjunto baseado em densidade, exames de imagem, bioimpedância e antropometria (SWEETING, 2007). A antropometria destaca-se na avaliação nutricional, especialmente por não ser invasiva, ter baixo custo, ser simples, de fácil obtenção dos dados, ser reprodutível e confiável, com alta sensibilidade e especificidade, bem como aceitação por parte dos avaliados (FRIGNANI *et al.*, 2015; PELEGRINI *et al.*, 2015). É aplicável em grandes amostras, sendo

usada na avaliação de indivíduos e populações, seja em ações clínicas, de triagem, ou mesmo em monitoração de tendências (CONDE; MONTEIRO, 2006). As medidas antropométricas e de composição corporal possíveis de serem mensuradas para o diagnóstico de obesidade, amplamente utilizadas em crianças e adolescentes são: circunferência da cintura (CC), razão cintura-estatura (RCE), IMC e percentual de gordura (%G) (FRIGNANI *et al.*, 2015; PELEGRINI *et al.*, 2015).

Quanto as formas de deposição de gordura, o enfoque tem sido na gordura localizada na região do abdome uma vez que está mais envolvida com risco à saúde. A CC é um índice aplicável para avaliar a obesidade central em crianças e adolescentes, embora não diferencie a gordura visceral e subcutânea (FERNÁNDEZ *et al.*, 2004; SWEETING, 2007; SCHWANDT, 2011; FREEDMAN, 2013; PELEGRINI *et al.*, 2015). Desta forma, há recomendações de ser incorporada na rotina da prática clínica (BRAMBILLA *et al.*, 2013; SCHRÖDER *et al.*, 2014).

Para interpretação são utilizadas tabelas de percentis, sendo criados pontos de corte por Freedman e colaboradores (1999), Taylor e colaboradores (2000), McCarthy, Jarrett e Rawley (2001), entre outros. Fernandez e colaboradores (2004) produziram uma referência para crianças e adolescentes com idades entre 2 a 18 anos, diferentes para três grupos étnicos de americanos, separando as análises por sexo e idade, sendo valores acima do percentil 75 indicativos de obesidade central (FERNÁNDEZ *et al.*, 2004). Tais fatores pessoais devem ser considerados, pois as crianças e adolescentes se encontram em fase de crescimento e o nível de gordura corporal está relacionado ao estágio puberal (SWEETING, 2007).

Assim como a CC, a RCE está relacionada com a obesidade central, sendo uma ferramenta para seu diagnóstico, e o valor não é influenciado por sexo e idade. Também está associada com risco cardiometabólico e é descrita como preditor de adiposidade total, inclusive melhor que a CC e o IMC. Por isso, é sugerido seu uso na triagem do excesso de peso em crianças e adolescentes (BRAMBILLA *et al.*, 2013; SCHRÖDER *et al.*, 2014; PELEGRINI *et*

*al.*, 2015). Embora não haja uma classificação consensual, a recomendação mais utilizada e replicada é um ponto de corte de 0,50, sendo os valores iguais ou superiores indicativos de obesidade central (SCHWANDT, 2011; KHOURY; MANLHIOT; McCRINDLE, 2013; SCHRÖDER *et al.*, 2014).

Outro marcador amplamente difundido é o IMC, utilizado no diagnóstico do estado nutricional. Há consenso que deva ser usado na prática clínica e na epidemiologia (REILLY, 2002; SWEETING, 2007; PELEGRINI *et al.*, 2015). É indicador de sobrepeso e obesidade infantojuvenil, sendo utilizado escores-Z e percentis para classificação de acordo com sexo e idade (CDC, 2015c; WHO, 2016b). Entretanto é importante reconhecer que sua fórmula é composta por peso e estatura, o que não permite a identificação da proporção de massa magra ou gorda. Sujeitos com o mesmo valor de IMC podem ter composições corporais distintas (SWEETING, 2007; BRAMBILLA *et al.*, 2013; PELEGRINI *et al.*, 2015). As etnias também devem ser consideradas na análise do resultado, pois possuem particularidades quanto a composição corporal (SWEETING, 2007). Ainda, o estágio puberal varia entre os adolescentes, em que um pós-púbere pode ter a mesma idade de um pré-púbere, no entanto são classificados de acordo com idade e sexo (CDC, 2015c).

Ao longo do tempo foram criadas referências para definição de sobrepeso e obesidade infantil, como *Centers for Disease Control in 2000 (CDC 2000)*, UK90, *International Obesity Task Force (IOTF)*, e para a população brasileira, Conde e Monteiro (CONDE; MONTEIRO, 2006; SWEETING, 2007). A classificação mais atual foi proposta pela OMS, em 2007, a qual visou criar uma referência internacional atualizada, propondo uma classificação para a faixa etária de 5 a 19 anos de idade (WHO, 2007), sendo adotada pelo Ministério da Saúde do Brasil.

Para avaliação da gordura subcutânea, o %G é um índice calculado a partir da espessura de dobras cutâneas, relatado como a medida mais aproximada de gordura corporal. A aferição é realizada com um compasso, tendo uma vantagem em termos de custo, em contraste com as

demais técnicas disponíveis de avaliação de gordura subcutânea, como a absorptometria de raio X de dupla energia, a ressonância magnética ou a tomografia computadorizada. Deve ser considerado o tipo de compasso, a identificação correta da dobra cutânea e a experiência do avaliador, pois são elementos que influenciam na precisão e acurácia das medidas de dobras cutâneas (SANT'ANNA; PRIORE; FRANCESCHINI, 2009; PELEGRINI *et al.*, 2015; FREEDMAN; OGDEN; KIT, 2015). Considerando que a distribuição da gordura corporal não é homogênea, devem ser aferidas dobras cutâneas em mais de uma região. A localização e aferição das dobras cutâneas variam conforme a equação de predição a ser utilizada (SANT'ANNA; PRIORE; FRANCESCHINI, 2009; FREEDMAN, 2013). A escolha da equação a ser utilizada dependerá da população avaliada, incluindo variáveis como idade e sexo, sendo a de Slaughter e colaboradores (1988) amplamente aceita para crianças e adolescentes entre 6 e 17 anos de idade. Utiliza o somatório de duas dobras cutâneas, tricipital e subescapular. Os valores podem ser classificados, sendo os pontos de corte criados por Lohman os mais utilizados para a mesma faixa etária (LOHMAN, 1987; BOTH *et al.*, 2014; CALLIAS *et al.*, 2016).

### 2.3 GENE FTO

O mecanismo de desenvolvimento do excesso de peso envolve diversos fatores e ainda não está completamente esclarecido. Sabe-se, até o momento, que é influenciado por questões genéticas, comportamentais, como alimentação e prática de exercícios físicos, além do ambiente. Entre os fatores ambientais, estão incluídos os aspectos intrauterinos, tipo de parto e alimentação oferecida nos primeiros anos de vida. O estilo de vida dos pais ou responsáveis também está intimamente associado ao comportamento dos filhos, influenciando nos hábitos alimentares e na prática de exercícios físicos. A redução da prática de exercícios físicos, por

sua vez, pode estar influenciada pela mudança das atividades de lazer, que estão cada vez mais sedentárias, até o modo de deslocamento, sendo realizado por veículos motorizados em detrimento de formas ativas. Deve ser considerado que nem sempre há espaços recreativos adequados na comunidade e rotas seguras para o deslocamento (SAHOO *et al.*, 2015; GURNANI; BIRKEN; HAMILTON, 2015; CDC, 2015b; REUTER *et al.*, 2016). A OMS destaca os índices de excesso de peso como consequência de alterações sociais, referindo que estão atrelados ao desenvolvimento social e econômico, às políticas na área da agricultura e demais, relacionadas à alimentação, transporte, planejamento urbano, meio ambiente e educação. Logo, políticas públicas podem ser facilitadoras de um estilo de vida saudável (WHO, 2016c).

O efeito da genética tem sido alvo de pesquisas, em que sua expressão é associada aos fatores ambientais e comportamentais (SILVA *et al.*, 2013; SAHOO *et al.*, 2015), varia conforme a idade e etnia, com maior influência em crianças, adolescentes e adultos jovens. O gene FTO (*fat mass and obesity associated gene*) tem sido relacionado à obesidade e vários polimorfismos de um nucleotídeo único (SNPs) já foram descritos neste gene (ELKS *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013).

Quanto à etnia, já está bem estabelecida a associação entre o IMC e o gene FTO para sujeitos com descendência europeia, sendo que aproximadamente 63% deles apresentam pelo menos um alelo de risco. Na sequência, a associação começou a ser testada para populações não-europeias, sendo evidenciado seus efeitos em indivíduos com ascendência asiática, porém em menor intensidade, e com uma menor frequência alélica do genótipo de risco. Os resultados até o momento são inconsistentes para africanos e afro-americanos (LOOS; YEO, 2013). Em uma amostra com adolescentes e mulheres adultas, negros, de uma região da África do Sul, foi identificada associação entre o polimorfismo rs1861554, do gene FTO, com a razão cintura quadril (SAHIBDEEN *et al.*, 2018).

Os mecanismos pelos quais o alelo A influencia no acúmulo de gordura ainda não estão precisos. Há indícios que, por ter uma alta expressão no hipotálamo, estimula a retenção das reservas de gordura, seja reduzindo níveis de saciedade, aumentando a capacidade de captar gordura pelos adipócitos, ou pela combinação de ambos (LIMA; GLANER; TAYLOR, 2010). Desta forma, aqueles com genótipo de risco para a obesidade consomem uma quantidade maior de alimentos, com alteração da preferência alimentar. Ainda, há dados que indicam alterações no apetite, na saciedade e na responsividade alimentar (LOOS; YEO, 2013; HESS; BRÜNING, 2014). Enquanto aumentam as evidências do papel do FTO com os hábitos alimentares, o nível de atividade física não parece estar relacionado a este gene, entretanto em sujeitos fisicamente ativos o efeito do FTO no IMC é aproximadamente 30% menor, quando comparados a adultos sedentários (LOOS; YEO, 2013).

### **2.3.1 Polimorfismo rs9939609**

Entre os polimorfismos do gene FTO, o rs9939609 destaca-se por estar constantemente relacionado ao fenótipo da obesidade, sendo o alelo A considerado de risco, principalmente quando homozigoto, ou seja, o alelo A possui um efeito aditivo (SOVIO *et al.*, 2011; ELKS *et al.*, 2012; LOOS; YEO, 2013; SILVA *et al.*, 2013).

No Brasil, alguns estudos foram realizados buscando compreender a influência do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em marcadores antropométricos e de composição corporal em crianças e adolescentes (SILVA *et al.*, 2013; LOURENÇO *et al.*, 2014; REUTER *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2016; MORAES *et al.*, 2016). Embora a maioria indique associação entre o alelo de risco e o excesso de peso, estes não são concordantes. Resultados de um acompanhamento realizado do nascimento aos 8 anos de idade, identificou que aos 4 anos a média do Z-score do IMC foi maior para os homozigotos do alelo A. Aos 8 anos, além

desse comportamento, foi identificado que o alelo de risco está relacionado ao aumento da gordura subcutânea (SILVA *et al.*, 2013). Na Região Norte, o alelo A foi associado com um IMC elevado durante a infância (LOURENÇO *et al.*, 2014). No Nordeste, adolescentes do sexo masculino com alelo A homozigoto apresentaram médias superiores para Z-escore do IMC, CC e RCE, quando comparados aos de alelo T homozigoto (MORAES *et al.*, 2016). Reuter e colaboradores (2016) concluíram que em escolares do Sul há uma associação entre o genótipo de risco e o excesso de peso (REUTER *et al.*, 2016). Na Região Sudeste, não foi identificada relação entre excesso de peso e o gene FTO em crianças (PEREIRA *et al.*, 2016).

Em pesquisa que observou o comportamento do IMC longitudinalmente (MEI *et al.*, 2010), desde o nascimento até a fase adulta, os valores foram associados a diversos polimorfismos do gene FTO. Entre os resultados, foi identificado que o polimorfismo rs9939609 teve influência num valor aumentado de IMC na idade adulta (redução do IMC para os genótipos AT e TT), mas não foram encontradas evidências dessa ocorrência na infância. Entretanto, os autores ponderam que embora não tenham verificado associação na população infantojuvenil, não descartam tal possibilidade, considerando pesquisas anteriores. Ressaltam que os efeitos do FTO devem ser testados para outras medidas/índices antropométricos, como CC e RCE (MEI *et al.*, 2010).

Em contrapartida, evidências indicam que o comportamento de sujeitos que possuem o alelo de risco varia durante a vida. Até 2,5 anos de idade, o alelo A foi relacionado com redução do IMC, porém estes sujeitos também apresentaram o rebote da adiposidade mais precocemente. Não houve associação entre o polimorfismo rs9939609 e o IMC entre os 2,5 e 5,5 anos de idade (SOVIO *et al.*, 2011). O efeito do genótipo de risco à obesidade atinge sua maior influência em adultos jovens, com redução ao longo da idade adulta. Até o momento não foi observada associação do gene FTO com o peso ao nascer (LOOS; YEO, 2013; HESS; BRÜNING, 2014).

### 3 JUSTIFICATIVA

A obesidade tem se destacado pela crescente prevalência mundial, inclusive na população infantojuvenil (NG *et al.*, 2014). No Brasil, a região Sul se mantém com as maiores frequências de excesso de peso (IBGE, 2010). Entre outros fatores que estão implicados na gênese da obesidade, os polimorfismos têm sido investigados devido a sua contribuição para alterações do estado nutricional, em diversas etnias e idades.

A associação entre polimorfismos do gene FTO e a obesidade foi primeiramente estabelecida em populações europeias, sendo mais tardiamente testada e confirmada com asiáticos, porém em menor intensidade. Em africanos, a relação permanece incerta (LOOS; YEO, 2013). É importante destacar que no contexto brasileiro há uma heterogeneidade étnica, devido a miscigenação, principalmente entre ameríndios, europeus e africanos subsaarianos (SUAREZ-KURTZ, 2009). Tal característica reflete na frequência de polimorfismos e pode estar implicada nos achados divergentes entre crianças e adolescentes brasileiros (REUTER *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2016). Por isso, é necessário ampliar as evidências e avançar sobre o tema na população brasileira, com abordagens metodológicas que proporcionem o aprofundamento da temática e na identificação dos marcadores com maior utilidade na prática clínica e epidemiológica.

Em meio a este cenário, também é observada a escassez de estudos que realizam medidas repetidas do estado nutricional na transição da infância para a adolescência, buscando identificar em que nível o polimorfismo influencia ao longo do tempo. Ao mesmo tempo, é descrita a tendência da redução da ocorrência de excesso de peso da infância para adolescência, com um declínio mais intenso na faixa etária dos 15-19 anos de idade (NG *et al.*, 2014). Portanto, identificar se aqueles com alelo de risco para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO),

possuem risco aumentado de se manterem obesos na adolescência, pode ser uma estratégia para direcionar futuras intervenções de prevenção secundária em saúde.

## 4 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação entre o estado nutricional e o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) de crianças e adolescentes em um intervalo de três anos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) quanto às variáveis do estado nutricional, em 2011/12 e 2014/15.
- Identificar a evolução dos escolares quanto ao estado nutricional, considerando três anos de intervalo.

## **5 HIPÓTESE DE TRABALHO**

H0: Crianças e adolescentes portadores do genótipo de risco para obesidade para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) não apresentam diferenças no estado nutricional quando comparados aos que não possuem o genótipo de risco, em um período de três anos.

H1: Crianças e adolescentes portadores do genótipo de risco para obesidade para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) apresentam alterações no estado nutricional, em um período de três anos.

## 6 METODOLOGIA

### 6.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população alvo da pesquisa são crianças e adolescentes, com idades entre 7 e 17 anos, de ambos os sexos, matriculados em escolas do município de Santa Cruz do Sul - Rio Grande do Sul. Foram considerados escolas públicas e particulares, da zona urbana e rural. A amostra selecionada é oriunda de dois bancos de dados, sendo considerados os alunos que compareceram nas avaliações físicas em 2011/12 e retornaram em 2014/15. Os bancos de dados originais consideraram os dados informados pela 6ª Coordenadoria Regional de Educação e Secretaria Municipal de Educação de Santa Cruz do Sul, sendo realizado o cálculo do tamanho amostral conforme a fórmula de Gil (1999) (Tabela 1). Em 2011/12 foram avaliados 1.949 escolares e em 2014-15, 2.502. Foram identificados 468 escolares que compareceram em ambos os estudos transversais. Sendo assim, trata-se de uma sub-amostra de banco de dados.

**Tabela 1 – População e amostra dos alunos de Santa Cruz do Sul**

Região	Zona Urbana										Zona Rural		Σ	
	Centro		Norte		Sul		Leste		Oeste		AL	ESC	AL	ESC
Dependência Admin.	AL	ESC	AL	ESC	AL	ESC	AL	ESC	AL	ESC	AL	ESC	AL	ESC
Part. EF	1488	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1488	4
Part. EM	560	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	560	4
Est. EF	2135	4	698	3	3381	6	285	1	750	2	768	5	8017	21
Est. EM	1694	3	258	1	1575	4	0	0	0	0	135	1	3662	9
Mun.	0	0	312	2	4198	10	328	2	317	1	1658	16	6813	31
Σ	5877	15	1268	6	9154	20	613	3	1067	3	2561	22	<b>20540</b>	<b>69</b>
%	29	22	6	9	45	29	3	4	5	4	12	32	100	100
n	115	2	30	2	166	3	11	2	21	2	49	4	392	15

Part.: Particular; Est.: Estadual; Mun.: Municipal; EF: ensino fundamental; EM: ensino médio; AL: número de alunos; ESC: número de escolas; n: número estimado para um erro de 5% para a amostra ser representativa do município.

As avaliações ocorreram nas dependências da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) e os recortes consistiram nos dados de genótipo de risco para obesidade e avaliação antropométrica e de composição corporal, sendo que todos os componentes foram coletados em uma oportunidade para cada período. A escolha das variáveis a serem adicionadas nas análises considerou, além da disponibilidade nos dois períodos, que elas deveriam ter sido coletadas com os mesmos protocolos.

Critérios de inclusão para esta sub-amostra: escolares que: a) compareceram na avaliação de 2011/12 e retornaram em 2014/15; b) realizaram o exame sanguíneo com a determinação do polimorfismo rs9939609 (gene FTO); c) realizaram a avaliação do estado nutricional completa; d) estavam na faixa etária entre 7 e 17 anos na avaliação e reavaliação. Foram excluídos os sujeitos que apresentaram dados incompletos ou inconsistentes no registro. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, permaneceram para análise os dados de 355 crianças e adolescentes.

## 6.2 DELINEAMENTO

Estudo longitudinal retrospectivo, o qual se caracteriza por um banco de dados com sujeitos avaliados previamente, sendo o período de seguimento encerrado. Desta forma, “a montagem da coorte, as aferições basais e o seguimento ocorreram no passado”. Neste caso, o papel do investigador foi identificar a coorte, bem como coletar tanto as variáveis preditoras quanto as de desfecho – que para fins deste estudo – foram aferidas todas no passado (HULLEY *et al.*, 2015).

### 6.3 TAMANHO AMOSTRAL

No uso de dados secundários, por vezes o tamanho da amostra pode ser determinado antes da análise dos dados. Quando isso ocorre, é possível estimar “a magnitude de efeito que poderá ser detectada com um determinado poder estatístico” (HULLEY *et al.*, 2015, p. 70). Considerando um  $\alpha$  0,050 e poder de 90%, eram necessários 115 sujeitos em cada grupo de genótipo para atingir uma magnitude de efeito de 0,40. Visando 15% de perdas, deveria ser incluído 133 escolares em cada grupo. O tamanho da amostra foi calculado no programa WinPEPI (versão 11.43), sendo considerados os dados publicados por Mei e colaboradores (2010), os quais referiram a diferença do IMC de 1,5 kg/m<sup>2</sup> entre os genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) e desvio padrão de 3,5 kg/m<sup>2</sup>.

### 6.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE COLETA

Dados demográficos e socioeconômicos foram obtidos através de questionário, autorreferidos:

- a) **Sexo:** variável qualitativa nominal, consideradas as opções masculino e feminino;
- b) **Idade:** dado quantitativo, descrita em anos completos;
- c) **Cor da pele:** dado qualitativo nominal, questionado conforme é preconizado no Brasil pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa, sendo as categorias branca, preta, amarela, parda ou indígena. Posteriormente reclassificado em branca e outras etnias;
- d) **Região escolar:** qualitativa nominal, definidas como zona urbana e rural;
- e) **Âmbito escolar:** qualitativa nominal, sendo consideradas três categorias: estadual, municipal e particular.

Foi avaliado o estágio puberal, conforme os critérios publicados por Tanner (1962), sendo disponibilizada uma ficha para identificação dos critérios por assimilação, diferente para meninos e meninas. Em ambos os sexos foram avaliados os pelos pubianos quanto a quantidade, a distribuição e a característica, sendo posteriormente analisado as características, o tamanho e o formato das mamas (meninas) e dos genitais (meninos). Os estágios compreendem desde a fase pré-púbere (estágio 1), púbere (estágios 2 a 4) e pós-púbere (estágio 5). Este dado estava disponível apenas na pesquisa de 2014/15.

Quanto as variáveis da avaliação nutricional, foram analisados os seguintes dados:

- a) **Circunferência da cintura (CC):** variável contínua, medida em centímetros, e qualitativa nominal, segundo os critérios de Fernández e colaboradores (2004).
- b) **Razão cintura-estatura (RCE):** variável contínua, resultante da divisão da CC pela estatura, ambos aferidos em centímetros. A variável categórica é dicotômica, indicando obesidade central quando  $RCE \geq 0,50$  (KHOURY; MANLHIOT; McCRINDLE, 2013).
- c) **Índice de massa corporal (IMC):** variável contínua, obtido pela divisão da massa corporal (peso) pela estatura ao quadrado, sendo expressa em quilogramas/metro<sup>2</sup>. A classificação, para obtenção do dado qualitativo nominal, foi realizada por percentis, considerando o sexo e a idade, segundo OMS (2007). Foram considerados eutróficos aqueles com  $IMC < P85$  e com excesso de peso  $IMC \geq P85$ .
- d) **Percentual de gordura (%G):** dado contínuo, proveniente da aferição das dobras cutâneas tricúspita e subescapular, utilizando o compasso de Lange®. Os valores das dobras cutâneas foram incluídos na equação de Slaughter e colaboradores (1988), classificados de acordo com pontos de corte de Lohman (1987), e posteriormente dicotomizados em: 1) desejável (muito baixo, baixo e ótimo) e 2) indesejável (moderadamente alto, alto e muito alto).

Para todas as variáveis antropométricas e de composição corporal foram calculados coeficientes parametrizados no *Statistical Package for the Social Sciences*, gerando as seguintes variáveis: CC Z-escore, RCE Z-escore, IMC Z-escore e %G Z-escore.

Para a avaliação do polimorfismo genético, a coleta de sangue foi na veia braquial, nas dependências do Laboratório de Bioquímica do Exercício, sendo a amostra processada no Laboratório de Genética e Biotecnologia, ambos pertencentes a UNISC. Foi realizada a extração do DNA e genotipagem por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. Amostras de sangue total com EDTA foram utilizadas para a extração do DNA, a qual foi determinada pelo método de *salting out* (MILLER; DYKES; POLESKY, 1988). A PCR em tempo real foi executada no equipamento *StepOne Plus* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), com sondas do tipo TaqMan. O gene avaliado foi o FTO, polimorfismo rs9939609. São genótipos possíveis: TT, AT e AA, sendo este último considerado como genótipo de risco.

## 6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise foi realizada no programa *Statistical Package for the Social Sciences*, constou de frequência absoluta e relativa para dados categóricos e de medidas de tendência central e dispersão para numéricos. Dados numéricos foram testados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, e as comparações entre os grupos de genótipos foram realizadas por: a) teste T de Student para amostras independentes ou Mann-Whitney na comparação intergrupos, e b) teste T para medidas repetidas ou teste de Wilcoxon na comparação intragrupos. Para dados categóricos foi utilizado qui-quadrado.

Para estimar a associação entre o estado nutricional e o polimorfismo rs9939609, foi realizada regressão de Poisson com variância robusta, em que foram apresentados os valores do risco relativo (RR) e intervalos de confiança de 95%. O polimorfismo foi definido a partir

do alelo A de risco (grupo: AA + AT; grupo: TT). Para o desfecho, cada variável do estado nutricional foi dicotomizado em ‘eutrofia’ e ‘obesidade’, com aqueles considerados na primeira categoria o grupo de referência. Foi apresentado o modelo bruto e ajustado para as variáveis de confusão sexo, cor da pele, região domiciliar e estágio puberal. Ainda, o teste de McNemar foi aplicado com a finalidade de identificar a evolução intragrupo, sendo possíveis as categorias eutrofia-eutrofia, eutrófia-obesidade, obesidade-obesidade e obesidade-eutrofia. Foram considerados significantes resultados com  $p < 0,05$ . Foi testado o equilíbrio de Hardy-Weinberg para o polimorfismo rs9939609 ( $p > 0,05$ ).

## 6.6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Seguindo os preceitos éticos, a presente pesquisa foi encaminhada ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNISC para apreciação, com número de parecer 1.836.983. Considerando que se trata de dados provenientes de dois bancos de dados, estes já foram coletados, tendo sido previamente aprovados pelo citado Comitê. Ambos projetos foram coordenados pela Dra. Miria Suzana Burgos, a qual assinou a carta de aceite para utilização das informações pelo presente projeto (APÊNDICE A). Tais pesquisas, com seus respectivos protocolos, são:

a) “Avaliação de indicadores bioquímicos de saúde de escolares usando espectroscopia no infravermelho, polimorfismos, saúde bucal e fatores relacionados ao estilo de vida: um estudo em Santa Cruz do Sul – Fase II”. CAAE: 0267.0.109.000-11 (Parecer número 2959/2011);

b) “Saúde dos escolares – Fase III. Avaliação de indicadores bioquímicos, genéticos, hematológicos, imunológicos, posturais, somatomotores, saúde bucal, fatores de risco às doenças cardiovasculares e estilo de vida de escolares: um estudo em Santa Cruz do Sul-RS”. CAAE: 31576714.6.0000.5343 (Parecer número 714.216).

Desta forma, foi justificada a ausência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, bem como do Termo de Assentimento, pois os documentos foram coletados quando os indivíduos ingressaram nos estudos supracitados, observadas os regulamentos vigentes na data de aprovação.

Foi reiterado o compromisso com a manutenção do sigilo das informações, com respeito à privacidade dos sujeitos de pesquisa. Não foram previstos riscos aos participantes, uma vez que se tratou de análises estatísticas de dados previamente coletados. Como benefício, obtivemos o aprofundamento da relação entre marcador genético e o excesso de peso, resultando em informações da população local, os quais estão disponíveis para o planejamento de ações futuras.

## 6.7 RECURSOS HUMANOS E INFRAESTRUTURA

Participaram das coletas e registro dos dados pesquisadores da UNISC incluindo: docentes e discentes do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde, docentes do Curso de Educação Física, bolsistas do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência, do Laboratório Lúdico e do Laboratório de Atividade Física e Saúde. Também participaram discentes de diversas áreas da saúde, vinculados a bolsas de fomento interno (UNISC) e externo (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul). Foram realizadas capacitações periódicas para os pesquisadores envolvidos, visando a divulgação dos protocolos utilizados e a padronização dos dados aferidos.

As coletas das pesquisas supracitadas ocorreram nos espaços da UNISC, sendo utilizados o Laboratório Lúdico na avaliação antropométrica, de composição corporal e de dados demográficos, Laboratório de Bioquímica do Exercício na coleta e processamento de

amostras de sangue e Laboratório de Genética e Biotecnologia para as análises do polimorfismo genético. O projeto “Saúde dos escolares – Fase III”, vinculado a linha de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da UNISC, foi contemplado com fomento do Programa Casadinho/Procad (MCT/CNPq/MEC/Capes), o qual possibilitou que discentes da UNISC fizessem intercâmbio com pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOTH, D. R. *et al.* Uso de diferentes equações para identificação e classificação da gordura corporal de crianças e adolescentes. **Revista de Salud Pública**, v. 16, n. 3, p. 431-442, 2014.

BRAMBILLA, P. *et al.* Waist circumference-to-height ratio predicts adiposity better than body mass index in children and adolescents. **International Journal of Obesity**, v. 37, n. 7, p. 943, 2013.

CALLIAS, C. *et al.* Assessment of skinfold thickness equations in estimating body composition in children with inflammatory bowel disease. **Journal of Paediatrics and Child Health**, v. 52, n. 5, p. 547-55, 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Childhood obesity facts**. 27 ago. 2015a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/healthyschools/obesity/facts.htm>>. Acesso em: 10 out. 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Childhood obesity causes & consequences**. 2015b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/obesity/childhood/causes.html>>. Acesso em: 10 nov. 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Defining childhood obesity: BMI for children and teens**. 2015c. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/obesity/childhood/defining.html>>. Acesso em: 7 nov. 2016.

CONDE, W. L.; MONTEIRO, C. A. Body mass index cutoff points for evaluation of nutritional status in Brazilian children and adolescents. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 4, p. 266-272, 2006.

ELKS, C. E. *et al.* Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. **Frontiers in Endocrinology (Lausanne)**, v. 3, p. 29, 2012.

FERNÁNDEZ, J. R. *et al.* Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. **Journal of Pediatrics**, v. 145, n. 4, p. 439-44, 2004.

FREEDMAN, D. S. *et al.* Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 308–317, 1999.

FREEDMAN, D. S. Determinação das medidas do tamanho corporal e níveis da pressão arterial entre as crianças. **Jornal de Pediatria**, v. 89, n. 3. p. 211–214, 2013.

FREEDMAN, D. S.; OGDEN C. L.; KIT B. K. Interrelationships between BMI, skinfold thicknesses, percent body fat, and cardiovascular disease risk factors among U.S. children and adolescents. **BMC Pediatrics**, v. 15, p. 188, 2015.

FRIGNANI, R. R. *et al.* Curvas de referência do índice de adiposidade corporal de adolescentes e sua relação com variáveis antropométricas. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 3, p. 248-255, 2015.

- GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 5. ed. São Paulo: Atlas, 1999.
- GURNANI, M.; BIRKEN, C.; HAMILTON, J. Childhood obesity: causes, consequences, and management. **Pediatric Clinics of North America**, v. 62, n. 4, p. 821–840, 2015.
- HESS, M. E.; BRÜNING, J. C. The fat mass and obesity-associated (FTO) gene: obesity and beyond? **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1842, p. 2039–2047, 2014.
- HULLEY, S. B. *et al.* **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.
- ISASI, C. R. *et al.* High prevalence of obesity among inner-city adolescent boys in the Bronx, New York: forgetting our boys. **Preventing Chronic Disease**, v. 8, n. 1, p. A23, 2011.
- JACKSON, S. E. *et al.* Weight perceptions in a population sample of English adolescents: cause for celebration or concern? **International Journal of Obesity (Lond)**, v. 39, n. 10, p. 1488-93, 2015.
- KHOURY, M.; MANLHIOT, C.; McCRINDLE, B. W. Role of the waist/height ratio in the cardiometabolic risk assessment of children classified by body mass index. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 8, p. 742-751, 2013.
- LIMA, W. A.; GLANER, M. F.; TAYLOR, A. P. Fenótipo da gordura, fatores associados e o polimorfismo rs9939609 do gene FTO. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 12, n. 2, p. 164-172, 2010.
- LIU, W. *et al.* Prevalence and association between obesity and metabolic syndrome among Chinese elementary school children: a school-based survey. **BMC Public Health**. v. 22, n. 10, p. 780, 2010.
- LOHMAN, T. G. The use of skinfold to estimate body fatness on children and youth. **Journal of Physical Education, Recreation and Dance**, v. 58, n. 9, p. 98-102, 1987.
- LOOS, R. J. F.; YEO, G. S. H. The bigger picture of FTO — the first GWAS - identified obesity gene. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, p. 51–61, 2013.
- LOURENÇO, B. H. *et al.* FTO genotype, vitamin D status, and weight gain during childhood. **Diabetes**, v. 63, n. 2, p. 808-14, 2014.
- MCCARTHY, H.; JARRETT, K.; RAWLEY, H. The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0–16.9 y. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, p. 902–907, 2001.
- MEI, H. *et al.* FTO influences on longitudinal BMI over childhood and adulthood and modulation on relationship between birth weight and longitudinal BMI. **Human Genetics**, v. 128, n. 6, p. 589–596, 2010.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MORAES, J. F. V. N. *et al.* FTO gene variant and association with overweight in Brazilian male students. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 18, n. 3, p. 259-267, 2016.

MUST, A.; ANDERSON, S. E. Body mass index in children and adolescents: considerations for population-based applications. **International Journal of Obesity**, v. 30, p. 590–594, 2006.

NG, M. *et al.* Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. **Lancet**, v. 384, n. 9945, p.766–81, 2014.

OSTOJIC, S. M. *et al.* Correlation between fitness and fatness in 6-14-year old Serbian school children. **Journal of Health, Population and Nutrition**, v.29, n. 1, p. 53-60, 2011.

PELEGRINI, A. *et al.* Indicadores antropométricos de obesidade na predição de gordura corporal elevada em adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 1, p. 56–62, 2015.

PEREIRA, P. A., *et al.* Lack of association between genetic polymorphism of FTO, AKT1 and AKTIP in childhood overweight and obesity. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 5, p. 521-7, 2016.

REILLY, J. J. Assessment of childhood obesity: national reference data or international approach? **Obesity Research**, v. 10, n. 8, p. 838-40, 2002.

REIS, L. N. *et al.* Hyperuricemia is associated with low cardiorespiratory fitness levels and excess weight in schoolchildren. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 5, p. 538–543, 2017.

REUTER, C. P. *et al.* Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 5, p. 493-98, 2016.

SAHIBDEEN, V. *et al.* Genetic variants in SEC16B are associated with body composition in black South Africans. **Nutrition and Diabetes**, v. 8, n. 1, p. 43, 2018.

SAHOO, K. *et al.* Childhood obesity: causes and consequences. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 4, n. 2, p. 187–192, 2015.

SANT'ANNA, M. S. L.; PRIORE, S. E.; FRANCESCHINI, S. C. C. Métodos de avaliação da composição corporal em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 3, p. 315-21, 2009.

SCHRÖDER, H. *et al.* Prevalence of abdominal obesity in spanish children and adolescents. do we need waist circumference measurements in pediatric practice? **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e87549, 2014.

SCHWANDT, P. Defining central adiposity in terms of clinical practice in children and adolescents. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 2, n. 1, p. 1–3, 2011.

SILVA, C. F. *et al.* Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. **BMC Medical Genetics**, v. 13, p. 14:34, 2013.

SLAUGHTER, M. H. *et al.* Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. **Human Biology**, v. 60, n. 5, article 4, 1988.

SOVIO, U. *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 Genetics**, v. 7, n. 2, p. e1001307, 2011.

SUAREZ-KURTZ, G. Farmacogenômica e a diversidade genética da população brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1650–1651, 2009.

SWEETING, H. N. Measurement and definitions of obesity in childhood and adolescence: a field guide for the uninitiated. **Nutrition Journal**, v. 6, p. 32, 2007.

TANNER, J. M. **Growth at adolescence**: with a general consideration of effects of hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth of maturity. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Scientific Publishers, 1962.

TAYLOR, R. *et al.* Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray. **The American Journal of Clinical Nutrition**, n. 1, p. 490–495, 2000.

TZOTZAS, T. *et al.* Prevalence of overweight and abdominal obesity in Greek children 6-12 years old: results from the National Epidemiological Survey. **Hippokratia**, v. 15, n. 1, p. 48–53, 2011.

WANG, L. *et al.* Variant rs1421085 in the FTO gene contribute childhood obesity in Chinese children aged 3–6 years. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 7, n. 1, p. e14-e22, 2013.

WEARING, S. C. *et al.* The impact of childhood obesity on musculoskeletal form. **Obesity Reviews**, v. 7, n. 2, p. 209-18, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **BMI-for-age (5-19 years)**. WHO reference 2007. Disponível em: <[http://www.who.int/growthref/who2007\\_bmi\\_for\\_age/en/](http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/)>. Acesso em: 17 ago 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Facts and figures on childhood obesity**. 29 October 2014. Disponível em: <http://www.who.int/end-childhood-obesity/facts/en/>. Acesso em: 10 out. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Childhood overweight and obesity**. 2016a. Disponível em: <<http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>>. Acesso em: 10 out. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **What is overweight and obesity?** 2016b. Disponível em:<[http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood\\_what/en/#](http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood_what/en/#)>. Acesso em: 10 out. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global strategy on diet, physical activity and health.** 2016c. Disponível em: <[http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood\\_why/en/](http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood_why/en/)>. Acesso em: 10 nov. 2016.

WU, H.; LI, H.; ZONG, X. The prevalence of overweight, obesity and stunting in school children aged 6-19 years in Beijing, China. **Annals of Human Biology**, v. 43, n. 6, p. 505-509, 2016.

## 8 ARTIGOS ORIGINAIS

### 8.1 Artigo 1 – Português

**QUAL A EVOLUÇÃO TEMPORAL DA RELAÇÃO ENTRE O ESTADO  
NUTRICIONAL E O POLIMORFISMO RS9939609 (GENE FTO) DE CRIANÇAS E  
ADOLESCENTES?**

**WHAT IS TEMPORARY EVOLUTION OF RELATIONSHIP BETWEEN  
NUTRITIONAL STATE AND RS9939609 (FTO GENE) POLYMORPHISM OF  
CHILDREN AND ADOLESCENTS?**

Éboni M Reuter<sup>1,4,5\*</sup>, Cézane P Reuter<sup>2,5</sup>, Elza D de Mello<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Mestre. E-mail: ebonireuter@unisc.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9606681939665877>.

<sup>2</sup> Doutora. E-mail: cezanereuter@unisc.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5984249463676775>.

<sup>3</sup> Doutora. E-mail: emello@hcpa.edu.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9771888712042730>.

<sup>4</sup>Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>5</sup>Departamento de Educação Física e Saúde. Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

**\*Autor correspondente**

Departamento de Educação Física e Saúde. Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC.

Avenida Independência, 2293 – Bloco 34, sala 3430. Telefone: +55 (51) 982457292. E-mail:

[ebonireuter@unisc.br](mailto:ebonireuter@unisc.br)

Artigo elaborado nas normas do periódico *Jornal de Pediatria*.

## Resumo

**Objetivo:** Comparar o estado nutricional conforme o polimorfismo rs9939609 (*fat mass and obesity associated gene* - FTO) de crianças e adolescentes, em um intervalo de três anos.

**Método:** Estudo longitudinal retrospectivo, com 355 crianças e adolescentes com idades entre 7 a 17 anos, que compareceram nas avaliações de 2011/12 e 2014/15, em um município do extremo Sul do Brasil. Foram mensurados marcadores de obesidade total e central. O polimorfismo rs9939609 foi avaliado, sendo considerados para comparação os genótipos TT e AT + AA. Nas comparações intergrupos, foi utilizado teste Mann-Whitney e qui-quadrado. Nas comparações intragrupos, teste de Wilcoxon. **Resultados:** Crianças e adolescentes com alelo A apresentaram maior risco cardiovascular avaliado pela circunferência da cintura no período 2014/15 (TT: 15,8%; AT + AA: 27,5%,  $p=0,011$ ). Nas comparações intergrupos, não foram identificadas diferenças nos demais marcadores para ambos os períodos, bem como em comparações intragrupos. Não foram identificadas diferenças com o Z-escore. **Conclusão:** Não houve diferenças nos valores do estado nutricional nos coeficientes parametrizados para escolares com alelo de risco. Entretanto, maior proporção de alto risco cardiovascular foi identificado em crianças e adolescentes com alelo A no período 2014/15.

Palavras-chave: Obesidade; Genética; Criança; Adolescente

## Abstract

**Objective:** To compare nutritional status as rs9939609 polymorphism (*fat mass and obesity associated gene* - FTO) of children and adolescents, at a three-year interval. **Methods:** Retrospective longitudinal study, with 355 children and adolescents aged 7 to 17 years, who attended the 2011/12 and 2014/15 evaluations, in a city in extreme southern Brazil. Markers of

total and central obesity were measured. The rs9939609 polymorphism was evaluated, being considered for comparison TT and AT + AA genotypes. In intergroup comparisons, Mann-Whitney and chi-square tests were used. In intragroup comparisons, Wilcoxon test. **Results:** Children and adolescents with allele A had a higher cardiovascular risk, assessed by waist circumference in 2014/15 (TT: 15.8%; AT + AA: 27.5%,  $p=0.011$ ). In intergroup comparisons, no differences were identified in other markers for both periods, as well as in intragroup comparisons. No differences were identified with Z-score. **Conclusion:** There were no differences in nutritional status in parameterized coefficients for schoolchildren with risk alleles. However, a higher proportion of high cardiovascular risk was identified in children and adolescents with A allele in 2014/15.

Keywords: Obesity; Genetic; Child; Adolescent.

## INTRODUÇÃO

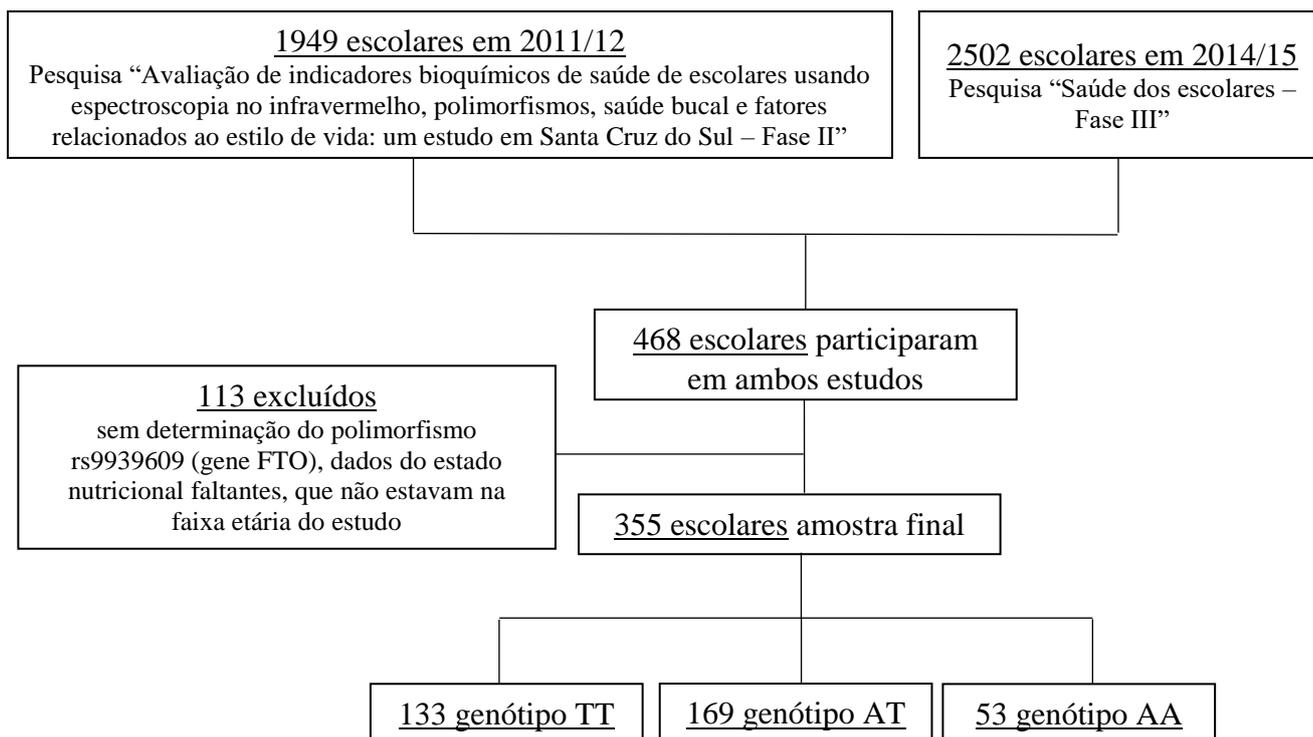
A obesidade infantojuvenil é uma temática atual, considerando a sua alta prevalência e relação com comorbidades na fase adulta. (1,2,3). A contribuição da genética entre os fatores causais tem sido explorada, permanecendo como campo de investigação. O polimorfismo rs9939609, no gene associado à massa gorda e obesidade (FTO; *fat-mass and obesity-associated gene*), tem sido continuamente relacionado à obesidade, sendo o alelo A o fator de risco. Ainda não se sabe qual é o mecanismo que aumenta a predisposição, bem como é escassa a literatura que identifica como este fator de risco influencia em diferentes momentos (1,2). Dos marcadores de obesidade, o índice de massa corporal (IMC) é usualmente o método de escolha, sendo descrita a associação entre maiores valores de IMC com o alelo de risco para crianças e adolescentes. Pesquisas com outros marcadores de obesidade ainda são divergentes (1–3).

Portanto, o objetivo desse estudo foi comparar o estado nutricional conforme o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) de escolares em um intervalo de três anos.

## **MÉTODOS**

### **Delineamento, Cenário e Amostra**

Estudo longitudinal, retrospectivo, conduzido com crianças e adolescentes de sete a dezessete anos de idade, de ambos os sexos, os quais estavam matriculados em escolas do município de Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul. Foram selecionados os escolares que haviam participado dos projetos “Avaliação de indicadores bioquímicos de saúde de escolares usando espectroscopia no infravermelho, polimorfismos, saúde bucal e fatores relacionados ao estilo de vida: um estudo em Santa Cruz do Sul – Fase II”, com coleta entre 2011 e 2012, e “Saúde dos escolares – Fase III”, com execução em 2014 e 2015. Ambas as pesquisas consideraram escolas privadas e públicas, de ensino fundamental e médio, das zonas centrais, norte, sul, leste e oeste. Foram identificados crianças e adolescentes com dados demográficos e socioeconômicos completos, do estado nutricional e do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) (Figura 1). Com as 355 crianças e adolescentes que preencheram os requisitos, foi estimado uma magnitude de efeito de 0,40, com  $\alpha$  (*two-sided*) 0,050 e poder de 90%. Nesta estimativa, foi considerado 115 sujeitos em cada grupo, sendo adicionado 15% de perdas, resultando em 133 sujeitos por grupo. O tamanho amostral foi calculado no WinPEPI (versão 11.43).



**Figura 1.** Fluxograma de composição da amostra final de escolares de um município do Sul do Brasil.

### Coleta de dados

Dados de identificação foram reportados pelos alunos no momento da entrevista, como sexo, idade (em anos e meses completos) e cor da pele (branca, parda, preta, amarela, indígena). Foi complementado com região escolar (zona urbana e rural) e âmbito escolar (estadual e municipal). A idade era confirmada com a data de nascimento oferecida pela escola. O estágio puberal foi coletado conforme os critérios de Tanner (1962) (4), identificados por assimilação em uma cartela com figuras, sendo definido os cinco estágios puberais, dado disponível apenas em 2014/15.

Medidas de obesidade total e central foram considerados para análise. Circunferência da cintura (CC) e razão cintura-estatura (RCE) foram mensurados para avaliação da obesidade central. A CC foi aferida no ponto central entre a crista ilíaca e última costela, classificada

segundo os critérios de Fernández e colaboradores (2004)(5). Para RCE, o valor da CC foi dividido pela estatura, resultando no indicador de obesidade central quando  $RCE \geq 0,50$  (6).

Em relação à obesidade total, foi utilizado o IMC e percentual de gordura (%G). O IMC foi avaliado pelo peso (kg) e estatura (m), sendo utilizado o valor em  $\text{kg/m}^2$  e a classificação por percentis da *World Health Organization* (2007)(7). Foi considerado eutrofia  $\text{IMC} < P85$  e excesso de peso  $\text{IMC} \geq P85$ . O %G foi avaliado pelas dobras cutâneas tricipital e subescapular, utilizando o compasso de Lange®. Os valores foram inseridos na equação de Slaughter e colaboradores (1988)(8). Critérios de Lohman (1987)(9) foram utilizados para classificação, posteriormente dicotomizados em desejável (muito baixo, baixo e ótimo) e indesejável (moderadamente alto, alto e muito alto).

Coefficientes parametrizados (Z-escore) foram calculados para todas as variáveis antropométricas e de composição corporal, considerando sexo e idade, no *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23.0 (IBM, Armonk, NY).

O polimorfismo rs9939609 (gene FTO) foi avaliado a partir de coleta de sangue da veia braquial. Os genótipos são TT, AT e AA, sendo os genótipos AT + AA considerados como grupo de risco para obesidade. A extração do DNA foi executada pelo método *salting out* (10), a partir das amostras de sangue total com EDTA. A genotipagem foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (*StepOne Plus*, Applied Biosystems, CA, USA), com sondas do tipo TaqMan (Applied Biosystems, CA, EUA). Detalhamentos dos procedimentos foram descritos anteriormente (11).

## **Métodos estatísticos**

Dados numéricos foram testados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Na comparação entre os alelos TT e AT + AA foi utilizado teste de Mann-Whitney para dados

numéricos e qui-quadrado para dados categóricos. Para avaliar a evolução do estado nutricional intragrupo entre os períodos foi calculado o teste de Wilcoxon, sendo analisado o dado contínuo bruto, Z-escore e categórico. O  $\Delta$  do Z-escore foi comparado entre os grupos dos genótipos pelo teste de Mann-Whitney. Os dados foram analisados e estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ). As análises foram realizadas no SPSS, versão 23.0 (IBM, Armonk, NY).

### **Aspectos éticos**

A pesquisa foi previamente apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade de Santa Cruz do Sul, com parecer número 1.836.983, sendo justificada a ausência do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e do Termo de Assentimento, considerando que tais documentos foram coletados quando os indivíduos ingressaram nas pesquisas originais.

## **RESULTADOS**

Foram identificadas 355 escolares que participaram das coletas nos dois períodos e que foram testados para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO). Não foram observadas diferenças entre os grupos de genótipos quanto as variáveis demográficas sexo, idade, cor da pele e âmbito escolar. Entretanto, escolares da zona rural apresentaram uma maior proporção de genótipos com alelo de risco (Tabela 1). No período 2011/12, a mediana de idade foi de 10 anos (IQ: 8;11), enquanto que em 2014/15 foi de 13 anos (IQ: 11;14). A amostra foi composta por 56,1% de meninas. Quanto aos genótipos, 62,5% apresentavam o alelo A (AT: 47,6% e AA: 14,9%). Em 2014/15, 295 escolares estavam no estágio puberal, majoritariamente no estágio 4 ( $n = 123$ ).

Tabela 1. Variáveis demográficas e polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em dois períodos, em escolares do Sul do Brasil.

Variáveis	2011/12 - n (%)		p	2014/15 - n (%)		p
	TT	AT+AA		TT	AT+AA	
Sexo						
Masculino	58 (37,2)	98 (62,8)	0,922 <sup>1</sup>	-	-	
Feminino	75 (37,7)	124 (62,3)		-	-	
Idade (anos) <sup>2</sup>	10,0 (9,0-11,0)	10,0 (8,0-12,0)	0,806 <sup>3</sup>	13,0 (11,0-14,0)	12,0 (11,0-15,0)	0,821 <sup>3</sup>
Cor da pele						
Branca	102 (36,2)	180 (63,8)	0,322 <sup>1</sup>	-	-	
Outras etnias	31 (42,5)	42 (57,5)		-	-	
Região escolar						
Urbana	81 (42,4)	110 (57,6)	0,038 <sup>1</sup>	82 (43,2)	108 (56,8)	0,017 <sup>1</sup>
Rural	52 (31,7)	112 (68,3)		51 (30,9)	114 (69,1)	
Âmbito escolar						
Municipal	61 (37,9)	100 (62,1)	0,881 <sup>1</sup>	57 (38,3)	92 (61,7)	0,794 <sup>1</sup>
Estadual	72 (37,1)	122 (62,9)		76 (36,9)	130 (63,1)	

FTO: *fat mass and obesity-associated*; <sup>1</sup>Teste de Qui-quadrado; <sup>2</sup>Mediana e intervalo interquartil; <sup>3</sup>Teste de Mann-Whitney;

Em 2011/12, não foram observadas diferenças entre os genótipos TT e AT + AA na comparação das medianas, bem como das classificações. No período 2014/15, foi identificado que escolares com genótipo TT apresentaram a menor proporção de alto risco cardiovascular avaliado pela CC (15,8%), enquanto que nos genótipos com o alelo A a frequência foi superior a 24% (AT: 28,4% e AA: 24,5%). Nesse período não foram verificadas diferenças nos dados numéricos para todas as variáveis e nos dados categóricos para as demais medidas do estado nutricional (Tabela 2).

Em comparações intragrupo, em ambos os genótipos houve diferenças entre os períodos para os valores brutos de CC, IMC e %G ( $p \leq 0,009$ ). Os valores de CC e IMC aumentaram, enquanto que de %G reduziram (Tabela 2). Quando realizado comparações entre os períodos com a amostra total, houve diferença para os valores brutos de CC, IMC e %G ( $p < 0,001$ ). Entretanto, a frequência de obesidade se manteve entre os períodos em todos os marcadores: CC (25,9% – 23,1%;  $p = 0,114$ ), RCE (17,7% - 18,9%;  $p = 0,465$ ), IMC (39,7% - 37,7%;  $p = 0,362$ ) e %G (42,5% - 38,3%;  $p = 0,120$ ), não sendo identificados diferenças intragrupos ( $p \geq 0,059$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Comparação intergrupos e intragrupos dos genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO), quanto às variáveis do estado nutricional, em escolares do Sul do Brasil. .

Variáveis	2011/12 - n (%)		P	2014/15 - n (%)		P	p intragrupo <sup>3</sup>	
	TT	AT+AA		TT	AT+AA		TT	AT+AA
CC <sup>4</sup>	60,30 (55,45;70,00)	63,00 (58,00;69,28)	0,114 <sup>1</sup>	68,00 (62,00;74,15)	69,00(63,00;77,00)	0,221 <sup>1</sup>	<0,001 <sup>3</sup>	<0,001 <sup>3</sup>
Baixo risco	104 (39,5)	159 (60,5)	0,171 <sup>2</sup>	112 (41,0)	161(59,0)	0,011 <sup>2</sup>	0,059 <sup>3</sup>	0,670 <sup>3</sup>
Alto risco	29 (31,5)	63 (68,5)		21(25,6)	61(74,4)			
RCE <sup>4</sup>	0,44 (0,41;0,47)	0,44 (0,41;0,47)	0,562 <sup>1</sup>	0,43 (0,40;0,46)	0,43(0,40;0,48)	0,728 <sup>1</sup>	0,310 <sup>3</sup>	0,418 <sup>3</sup>
Sem obesidade	114 (39,0)	178 (61,0)	0,187 <sup>2</sup>	114(39,6)	174(60,4)	0,087 <sup>2</sup>	1,000 <sup>3</sup>	0,394 <sup>3</sup>
Com obesidade	19 (30,2)	44 (69,80)		19(28,4)	48(71,6)			
IMC <sup>4</sup>	18,05 (15,90;21,40)	18,39 (16,42;21,12)	0,273 <sup>1</sup>	20,43 (17,98;23,08)	20,49(18,34;23,58)	0,500 <sup>1</sup>	<0,001 <sup>3</sup>	<0,001 <sup>3</sup>
Eutrofia	83 (38,8)	131 (61,2)	0,527 <sup>2</sup>	87(39,4)	134(60,6)	0,342 <sup>2</sup>	0,414 <sup>3</sup>	0,612 <sup>3</sup>
Excesso de peso	50 (35,5)	91 (64,5)		46(34,3)	88(65,7)			
%G <sup>4</sup>	21,58 (16,35;27,50)	21,93(17,23;26,81)	0,799 <sup>1</sup>	20,20 (16,35;25,97)	20,70(14,58;26,75)	0,683 <sup>1</sup>	0,009 <sup>3</sup>	<0,001 <sup>3</sup>
Desejável	76(37,3)	128(62,7)	0,924 <sup>2</sup>	85(38,8)	134(61,2)	0,506 <sup>2</sup>	0,139 <sup>3</sup>	0,423 <sup>3</sup>
Indesejável	57(37,7)	94(62,3)		48(35,3)	88(64,7)			

FTO: *fat mass and obesity-associated*. CC: circunferência da cintura; RCE: razão cintura estatura; IMC: índice de massa corporal; %G: percentual de gordura. <sup>1</sup>Teste de Mann-Whitney; <sup>2</sup> Teste Qui-quadrado; <sup>3</sup> Teste de Wilcoxon; <sup>4</sup>Mediana e intervalo interquartil.

Não foram identificados resultados significativos para o Z-escore intragrupo (Tabela 3) e intergrupo, bem como para o  $\Delta$  Z-escore.

Tabela 3. Comparação intragrupo dos genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO), para os períodos quanto ao Z-escore das variáveis antropométricas e de composição corporal, em escolares do Sul do Brasil.

Variáveis	TT		p <sup>1</sup>	AT+AA		p <sup>1</sup>
	2011/12	2014/15		2011/12	2014/15	
CC Z-escore	-0,39 (-0,78;0,53)	-0,20 (-0,75;0,33)	0,326	-0,13 (-0,62;0,66)	-0,19 (-0,61;0,77)	0,963
RCE Z-escore	-0,24 (-0,71;0,41)	-0,22 (-0,56;0,45)	0,450	-0,14 (-0,64;0,64)	-0,21 (-0,66;0,80)	1,000
IMC Z-escore	-0,28 (-0,80;0,45)	-0,28 (-0,61;0,44)	0,644	-0,22 (-0,65; 0,72)	-0,13 (-0,65;0,61)	0,222
%G Z-escore	-0,24 (-0,84;0,70)	-0,09 (-0,71;0,68)	0,572	-0,12 (-0,71;0,62)	-0,12 (-0,76;0,72)	0,398

FTO: *fat mass and obesity-associated*; CC: circunferência da cintura; RCE: razão cintura estatura; IMC: índice de massa corporal; %G: percentual de gordura; <sup>1</sup>Teste de Wilcoxon

## DISCUSSÃO

O presente estudo teve como propósito avaliar o estado nutricional de crianças e adolescentes em um intervalo de três anos, sendo incluídas medidas de obesidade total e central. Os achados revelam o aumento dos valores brutos de CC e IMC e redução de %G para ambos os genótipos. Não houve diferenças entre os períodos para os Z-escores ou  $\Delta$  Z-escore. Os grupos com o alelo A (AT + AA) apresentaram maior proporção de escolares com risco cardiovascular pela CC no período de 2014/15.

A temática da obesidade no Brasil é relevante, pois está entre os dez países que concentram mais de 50% dos obesos no mundo (12). Em crianças e adolescentes brasileiros, a tendência secular indica um aumento da ocorrência do excesso de peso entre 1974 a 2009. A distribuição dessa condição por faixa etária revela que crianças apresentam frequências superiores quando comparados aos adolescentes (47,8% *versus* 25,4%) (13). Ng e colaboradores (12) realizaram um levantamento que incluiu medidas de IMC de indivíduos de 188 países. Os achados revelam uma redução das prevalências de excesso de peso e obesidade da infância para a adolescência. Comparativamente, há uma redução dos 5-9 anos para os 10-14 anos, que se intensifica aos 15-19 anos de idade. Não foram identificados nos achados do

presente estudo redução significativa das frequências dos marcadores de obesidade, tanto de obesidade total, quanto central, na comparação dos períodos 2011/12 e 2014/15.

A variação da frequência da obesidade entre crianças e adolescentes tem sido relacionada ao estágio puberal. Dados da população romena referem que crianças e adolescentes pré-púberes e em puberdade precoce eram 3,9 vezes mais propensas a apresentarem excesso de peso quando comparadas aos pós-púberes. Entre 6 a 12 anos (pré-púberes/puberdade precoce) as frequências de excesso de peso oscilaram entre 34,2% e 33,8% e em adolescentes de 15 a 19 anos (puberdade tardia/pós-púberes) entre 18,1% a 13,6% (14). As relações complexas entre regulação hormonal, nutrição e adiposidade associados ao desenvolvimento físico e puberal ainda precisam ser aprofundadas (15).

Os valores brutos de CC e IMC aumentaram em todos os genótipos, resultado esperado, considerando a evolução das variáveis nesta faixa etária. No entanto, este aumento não se refletiu nos coeficientes parametrizados, uma vez que não foram identificadas diferenças intragrupo e intergrupo para os Z-escore. Crianças e adolescentes finlandeses foram avaliadas para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), a partir do primeiro ano de vida. Os autores indicam que entre 7 a 15 anos de idade foi observado um efeito do alelo A homozigoto nos valores do IMC, quando comparados aqueles com pelo menos um alelo T. O mesmo comportamento foi observado para CC (AA: 75,2 cm e AT+TT: 72,5 cm  $p=0,05$ ) (16).

Em estudos na população infantojuvenil brasileira, os resultados não são divergentes. Na presente pesquisa foi possível inferir relação entre o alelo de risco do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) e a obesidade avaliada pela CC, em 2014/15, sem diferenças quando realizadas comparações intragrupo. A ausência de associação foi relatada por Pereira e colaboradores (17), os quais avaliaram os polimorfismos AKT1, FTO e AKTIP. Ao acompanhar 348 crianças, Silva e colaboradores (2) identificaram dois marcos: aos 4 anos, médias superiores de Z-escore para o genótipo AA; aos 8 anos, observaram adicionalmente o

aumento da gordura subcutânea para o mesmo genótipo. Escolares de Santa Cruz do Sul-RS foram identificados previamente em estudo transversal, associados ao desfecho obesidade quanto ao alelo A homozigoto. Nesse genótipo foi reportada associação do excesso de peso com o histórico familiar de obesidade (11). As evidências científicas sobre a contribuição do polimorfismo aqui investigado são principalmente relacionadas a populações caucasianas (18), e a composição étnica brasileira possibilita diferenças regionais para associação ao desfecho obesidade (17). Nossa amostra foi composta por 79,4% de escolares que se autodeclaram brancos.

Deve ser considerado que a obesidade é uma condição complexa e multifatorial. Portanto, além da suscetibilidade genética, a interação ambiental tem sido amplamente investigada. Nesse contexto, encontramos diferenças na distribuição dos genótipos por região escolar, em que escolares de regiões rurais apresentaram maior proporção do genótipo AT + AA. Entretanto, no Brasil, morar em áreas rurais parece ser um dos elementos protetivos ao risco de excesso de peso, uma vez que essa condição é mais frequente em crianças e adolescentes residentes em áreas urbanas (13,19). Tais achados tem sido associados ao lazer ativo e menor tempo dispendido em comportamentos sedentários, como o tempo de tela (20), e ao comportamento alimentar (21). O nível de atividade física é controverso (20,22).

Apontamos como limitação o fato de não ter sido considerado os mecanismos contributivos para a expressão da composição corporal, como o consumo alimentar e o tempo dispendido na prática de exercício físico. Além disso, existem outros polimorfismos de nucleotídeo simples no gene FTO, que podem estar associados ao risco de obesidade (16). No entanto, o presente estudo aprofunda a temática em uma faixa etária que incluiu crianças e adolescentes, com o uso de medidas de obesidade total e central. Ainda, contemplou um intervalo de três anos, ampliando as informações quanto a influência do alelo de risco nas diferentes idades.

Não foram evidenciadas diferenças de valores do estado nutricional nos Z-escores entre os genótipos TT e AT + AA, em análises intragrupos e intergrupos. Para a classificação da CC em 2014/15, escolares com genótipo AT + AA apresentaram maiores frequência de alto risco.

### **Agradecimentos**

À Miria Suzana Burgos (*in memoriam*), por ter confiado o uso dos dados coletados em pesquisas prévias, sob sua coordenação.

### **Financiamento**

Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc) e Programa Casadinho/Procad (MCT/CNPq/MEC/Capes).

## REFERÊNCIAS

1. Mei H, Chen W, Srinivasan SR, Jiang F, Schork N, Murray S, et al. FTO influences on longitudinal BMI over childhood and adulthood and modulation on relationship between birth weight and longitudinal BMI. *Hum Genet.* 2010;128(6):589–96.
2. Silva CF, Zandoná MR, Vitolo MR, Campagnolo PDB, Rotta LN, Almeida S, et al. Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. *BMC Med Genet.* 2013;14(1):1–8.
3. Abdelmajed SS, Youssef M, Zaki ME, Abu-Mandil Hassan N, Ismail S. Association analysis of FTO gene polymorphisms and obesity risk among Egyptian children and adolescents. *Genes Dis* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;4(3):170–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gendis.2017.06.002>
4. Tanner JM. Growth at adolescence: with a general consideration of effects of hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth of maturity. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Scientific Publishers; 1962.
5. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr.* 2004;145(4):439–44.
6. Khoury M, Manhiot C, McCrindle BW. Role of the waist/height ratio in the cardiometabolic risk assessment of children classified by body mass index. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(8):742–51.
7. World Health Organization. BMI-for-age (5-19 years) [Internet]. 2007 [cited 2018 Jul 9]. Available from: [http://www.who.int/growthref/who2007\\_bmi\\_for\\_age/en/](http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/)
8. Slaughter AMH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Loan MDVAN, et al. Skinfold Equations for Estimation of Body Fatness in Children and Youth

- Published by: Wayne State University Press Stable URL:  
<http://www.jstor.org/stable/41464064> . Hum Biol. 2013;60(5):709–23.
9. Lohman TG. The Use of Skinfold to Estimate Body Fatness on Children and Youth. *J Phys Educ Recreat Danc* [Internet]. 1987;58(9):98–103. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07303084.1987.10604383>
  10. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215.
  11. Reuter CP, Burgos MS, Bernhard JC, Tornquist D, Klinger EI, Borges TS, et al. Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. *J Pediatr (Versão em Port* [Internet]. Sociedade Brasileira de Pediatria; 2016;92(5):493–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2255553616300404>
  12. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. *Lancet.* 2014;384(9945):766–81.
  13. Brasil. Pesquisa de orçamentos familiares: Antropometria e estado nutricional de crianças e adolescentes. Rio de Janeiro: IBGE; 2010. 1-130 p.
  14. Chirita-Emandi A, Barbu CG, Cinteza EE, Chesaru BI, Gafencu M, Mocanu V, et al. Overweight and Underweight Prevalence Trends in Children from Romania - Pooled Analysis of Cross-Sectional Studies between 2006 and 2015. *Obes Facts.* 2016;9(3):206–20.
  15. Addo OY, Miller BS, Lee PA, Hediger ML, Himes JH. Age at hormonal onset of puberty based on luteinizing hormone, inhibin B, and body composition in preadolescent US girls. *Pediatr Res.* 2014;76(6):564–70.

16. Hakanen M, Raitakari OT, Lehtimäki T, Peltonen N, Pahkala K, Sillanmäki L, et al. FTO genotype is associated with body mass index after the age of seven years but not with energy intake or leisure-time physical activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(4):1281–7.
17. Pereira P de A, Alvim-Soares AM, Sandrim VC, Lanna CMM, Souza-Costa DC, Belo V de A, et al. Lack of association between genetic polymorphism of FTO, AKT1 and AKTIP in childhood overweight and obesity. *J Pediatr.* 2016;92(5):521–7.
18. Quan LL, Wang H, Tian Y, Mu X, Zhang Y, Tao K. Association of fat-mass and obesity-associated gene FTO rs9939609 polymorphism with the risk of obesity among children and adolescents: A meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(4):614–23.
19. Fradkin C, Valentini NC, Nobre GC, dos Santos JOL. Obesity and Overweight Among Brazilian Early Adolescents: Variability Across Region, Socioeconomic Status, and Gender. *Front Pediatr* [Internet]. 2018;6(April):1–8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2018.00081/full>
20. Regis MF, Oliveira LMFT de, Santos ARM dos, Leonidio A da CR, Diniz PRB, Freitas CMSM de. Urban versus rural lifestyle in adolescents: associations between environment, physical activity levels and sedentary behavior. *Einstein (São Paulo)* [Internet]. 2016;14(4):461–7.
21. Louzada MLC, Baraldi LG, Steele EM, Martins APB, Canella DS, Moubarac J-C et al. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Brazilian adolescents and adults. *Preventive Medicine*, 81:9-15, 2015.
22. Santos Silva DA, Petroski EL, Araujo Gaya AC. Secular Changes in Aerobic Fitness Levels in Brazilian Children. *Rev Bras Med Do Esporte.* 2017;23(6):450–4.

## 8.2 Artigo 1 – Inglês

### WHAT IS TEMPORARY EVOLUTION OF RELATIONSHIP BETWEEN NUTRITIONAL STATE AND RS9939609 POLYMORPHISM (FTO GENE) OF CHILDREN AND ADOLESCENTS?

#### Abstract

**Objective:** To compare nutritional status as rs9939609 polymorphism (fat mass and obesity associated gene - FTO) of children and adolescents at a three-year interval. **Methods:** Retrospective longitudinal study, with 355 children and adolescents aged seven to 17 years, who attended the 2011/12 and 2014/15 evaluations, in a city in extreme southern Brazil. Markers of total and central obesity were measured. The rs9939609 polymorphism was evaluated, being considered for comparison TT and AT + AA genotypes. In intergroup comparisons, Mann-Whitney and chi-square tests were used. In intragroup comparisons, Wilcoxon test. **Results:** Children and adolescents with A allele had a higher cardiovascular risk, assessed by waist circumference in 2014/15 (TT: 15.8%; AT + AA: 27.5%,  $p=0.011$ ). In intergroup comparisons, no differences were identified in other markers for both periods, as well as in intragroup comparisons. No differences were identified with Z-score. **Conclusion:** There were no differences in nutritional status in standardized coefficients for schoolchildren with risk allele. However, a higher proportion of cardiovascular risk was identified in children and adolescents with A allele in 2014/15.

Keywords: Obesity; Genetic; Child; Adolescent.

## **INTRODUCTION**

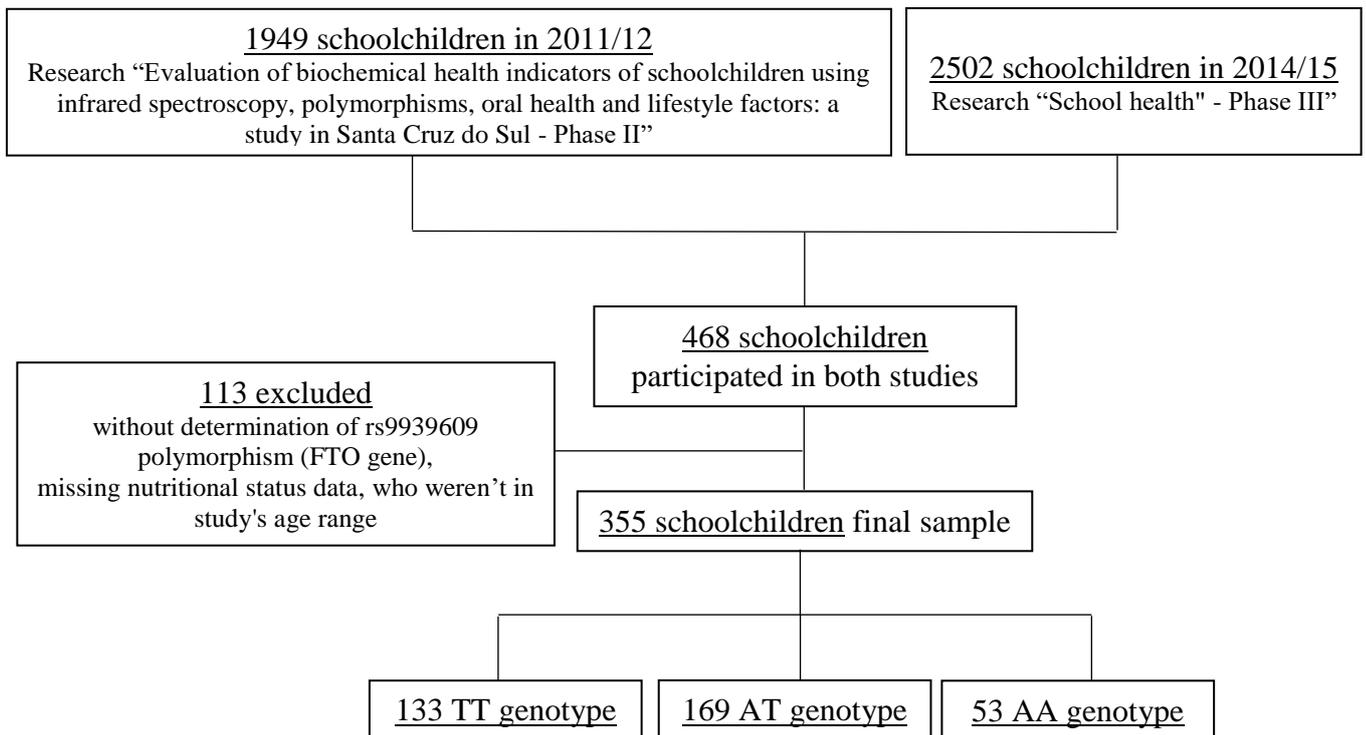
Childhood obesity is a current issue, considering its high prevalence and relation with comorbidities in adulthood (1,2,3). The contribution of genetics among causal factors has been explored and remains a research field. The rs9939609 polymorphism, in fat-mass and obesity-associated gene (FTO), has been continuously related to obesity, with A allele the risk factor. It's not yet known what mechanism increase predisposes, as well as scarce literature that identifies how this risk factor influences in different moments (1,2). Among obesity markers, body mass index (BMI) is usually choice method, once association between higher BMI values and risk allele for children and adolescents is described. Research still divergent with other obesity markers (1-3). Therefore, the objective of this study was to evaluate the relationship between nutritional status and rs9939609 polymorphism (FTO gene) of schoolchildren at a three-year follow-up interval.

## **METHODS**

### **Design, Scenario and Sample**

A retrospective longitudinal study conducted with children and adolescents aged seven to 17 years of both sexes, who were enrolled in schools of Santa Cruz do Sul - Rio Grande do Sul, Brazil. Were selected schoolchildren who participated in projects "Evaluation of biochemical health indicators of schoolchildren using infrared spectroscopy, polymorphisms, oral health and lifestyle factors: a study in Santa Cruz do Sul - Phase II", with collection between 2011 and 2012, and "School health" - Phase III ", with execution in 2014 and 2015. Both surveys considered private and public schools, elementary and high school from the central, north, south, east and west zones. Children and adolescents with complete demographic and

socioeconomic data, nutritional status and rs9939609 polymorphism (FTO gene) were identified (Figure 1). With 355 children and adolescents who met the requirements, an effect magnitude of 0.40 was estimated, with  $\alpha$  (two-sided) 0.050 and power of 90%. In this estimation, 115 subjects were considered in each group, and 15% of the losses were added, resulting in 133 subjects per group. The sample size was calculated in WinPEPI (version 11.43).



**Figure 1.** Flow diagram for final sample composition of schoolchildren in a city in southern Brazil.

### Data collect

Identification data were reported by students at interview, such as gender, age (in full years and months) and skin color (white, brown, black, yellow, indigenous). It was complemented with school region (urban and rural zone) and school ambit (state and municipal). Age was confirmed by birthdate offered by school. The pubertal stage was collected

according to Tanner (1962) (4) criteria, identified by assimilation in a chart with figures, being defined the five pubertal stages, data available only in 2014/15.

Measures of total and central obesity were considered for analysis. Waist circumference (WC) and waist-to-height ratio (WHtR) were measured for central obesity assessment. The WC was measured at the central point between iliac crest and last rib, classified according Fernández et al. (2004) (5) criteria. For WHtR, the WC value was divided by height, resulting in central obesity indicator when  $WHtR \geq 0.50$  (6).

In relation to total obesity, was used BMI and body fat percentage (BF%). The BMI was evaluated by weight (kg) and height (m), using the value in  $kg/m^2$  and the classification by percentile of the World Health Organization (2007) (7). BMI <P85 were considered eutrophy and overweight BMI  $\geq$  P85. BF% was evaluated by triceps and subscapular skinfolds, using Lange® compass. The values were inserted in Slaughter et al. (1988) (8) equation. Lohman criteria (1987) (9) were used for classification, dichotomized into desirable (very low, low and optimal) and undesirable (moderately high, high and very high).

Standardized coefficients (Z-scores) were calculated for all anthropometric and body composition variables, considering gender and age, in Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 23.0 (IBM, Armonk, NY).

The rs9939609 polymorphism (FTO gene) was evaluated from blood collection of brachial vein. The genotypes are TT, AT and AA, with AT + AA genotypes considered as a risk group for obesity. DNA extraction was performed by the salting out method (10), from EDTA whole blood samples. Genotyping was performed by real-time polymerase chain reaction (PCR) (StepOne Plus, Applied Biosystems, CA, USA) with probes TaqMan type (Applied Biosystems, CA, USA). Details of the procedures were described previously (11).

## **Statistical methods**

Numerical data were tested for normality of distribution by Shapiro-Wilk test. In comparison between TT and AT + AA alleles, Mann-Whitney test was used for numerical data and chi-square for categorical data. To evaluate intragroup evolution nutritional status between periods, Wilcoxon test was used, and were analyzed continuous absolute values, Z-score and categorical data.  $\Delta$  Z-score was compared between genotypes groups by Mann-Whitney test. The data were analyzed and are in Hardy-Weinberg equilibrium ( $p > 0.05$ ). The analyzes were performed in the SPSS, version 23.0 (IBM, Armonk, NY).

## **Ethical aspects**

The research was previously appreciated by Committee of Ethics in Research with Human Beings of the University of Santa Cruz do Sul, with protocol number 1.836.983, justifying absence of Term of Free and Prior Informed Consent and Term of Assent, considering that such documents were collected when individuals entered the original surveys.

## **RESULTS**

We identified 355 schoolchildren who participated in collections in two periods and were tested for rs9939609 polymorphism (FTO gene). No differences were observed between the genotype groups to demographic variables as gender, age, skin color and school ambit. However, rural schoolchildren presented a higher proportion of genotypes with risk allele (Table 1). In 2011/12 period, the median age was 10 years (IQ: 8;11), while in 2014/15 it was 13 years (IQ: 11;14). The sample consisted of 56.1% girls. For genotypes, 62.5% presented the

A allele (AT: 47.6% and AA: 14.9%). In 2014/15, 295 schoolchildren were in pubertal stage, mostly in stage 4 (n = 123).

Table 1. Demographic variables and rs9939609 polymorphism (FTO gene), at two periods, in schoolchildren from Southern Brazil.

Variables	2011/12 - n (%)		P	2014/15 - n (%)		P
	TT	AT+AA		TT	AT+AA	
Gender						
Male	58 (37.2)	98 (62.8)	0.922 <sup>1</sup>	-	-	0.821 <sup>3</sup>
Female	75 (37.7)	124 (62.3)		-	-	
Age (years) <sup>2</sup>	10.0 (9.0-11.0)	10.0 (8.0-12.0)	0.806 <sup>3</sup>	13.0 (11.0-14.0)	12.0 (11.0-15.0)	
Skin color						
White	102 (36.2)	180 (63.8)	0.322 <sup>1</sup>	-	-	
Other ethnicities	31 (42.5)	42 (57.5)		-	-	
School region						
Urban	81 (42.4)	110 (57.6)	0.038 <sup>1</sup>	82 (43.2)	108 (56.8)	0.017 <sup>1</sup>
Rural	52 (31.7)	112 (68.3)		51 (30.9)	114 (69.1)	
School ambit						
Municipal	61 (37.9)	100 (62.1)	0.881 <sup>1</sup>	57 (38.3)	92 (61.7)	0.794 <sup>1</sup>
State	72 (37.1)	122 (62.9)		76 (36.9)	130 (63.1)	

FTO: fat mass and obesity-associated; <sup>1</sup>Qui-square test; <sup>2</sup> Median and interquartile range; <sup>3</sup>Mann-Whitney test;

In 2011/12, no differences were observed between TT and AT + AA genotypes in comparison of medians, as well as classifications. In 2014/15 period, it was identified that schoolchildren with TT genotype presented the lowest proportion of high cardiovascular risk assessed by WC (15.8%), whereas in genotypes with allele A the frequency was higher than 24% (AT: 28.4% and AA: 24.5%). In this period, there were no differences in numerical data for all variables and in categorical data for the other nutritional status measures (Table 2).

In intragroup comparisons, in both genotypes there were differences between periods for WC, BMI and BF% absolute values ( $p \leq 0.009$ ). WC and BMI increased, while BF% decreased (Table 2). When comparisons were made between periods with total sample, there was difference for absolute values of WC, BMI and BF% ( $p < 0.001$ ). However, the frequency of obesity remained between the periods in all markers: WC (25.9% - 23.1%,  $p = 0.114$ ), WHtR (17.7% - 18.9%,  $p = 0.465$ ), and BF% (42.5% - 38.3%;  $p = 0.120$ ), with no significant differences between intragroups ( $p \geq 0.059$ ).

Table 2. Intergroup and intragroup comparison of genotypes rs9939609 polymorphism (FTO gene), as to nutritional status, in schoolchildren from Southern Brazil.

Variables	2011/12 - n (%)		P	2014/15 - n (%)		P	p intragroup <sup>3</sup>	
	TT	AT+AA		TT	AT+AA		TT	AT+AA
WC <sup>4</sup>	60.30 (55.45;70.00)	63.00 (58.00;69.28)	0.114 <sup>1</sup>	68.00 (62.00;74.15)	69.00 (63.00;77.00)	0.221 <sup>1</sup>	<0.001 <sup>3</sup>	<0.001 <sup>3</sup>
Low risk	104 (39.5)	159 (60.5)	0.171 <sup>2</sup>	112 (41.0)	161 (59.0)	0.011 <sup>2</sup>	0.059 <sup>3</sup>	0.670 <sup>3</sup>
High risk	29 (31.5)	63 (68.5)		21 (25.6)	61 (74.4)			
WHR <sup>4</sup>	0.44 (0.41;0.47)	0.44 (0.41;0.47)	0.562 <sup>1</sup>	0.43 (0.40;0.46)	0.43 (0.40;0.48)	0.728 <sup>1</sup>	0.310 <sup>3</sup>	0.418 <sup>3</sup>
Non-obesity	114 (39.0)	178 (61.0)	0.187 <sup>2</sup>	114 (39.6)	174 (60.4)	0.087 <sup>2</sup>	1.000 <sup>3</sup>	0.394 <sup>3</sup>
Obesity	19 (30.2)	44 (69.80)		19 (28.4)	48 (71.6)			
BMI <sup>4</sup>	18.05 (15.90;21.40)	18.39 (16.42;21.12)	0.273 <sup>1</sup>	20.43 (17.98;23.08)	20.49 (18.34;23.58)	0.500 <sup>1</sup>	<0.001 <sup>3</sup>	<0.001 <sup>3</sup>
Eutrophy	83 (38.8)	131 (61.2)	0.527 <sup>2</sup>	87 (39.4)	134 (60.6)	0.342 <sup>2</sup>	0.414 <sup>3</sup>	0.612 <sup>3</sup>
Overweight	50 (35.5)	91 (64.5)		46 (34.3)	88 (65.7)			
BF% <sup>4</sup>	21.58 (16.35;27.50)	21.93 (17.23;26.81)	0.799 <sup>1</sup>	20.20 (16.35;25.97)	20.70 (14.58;26.75)	0.683 <sup>1</sup>	0.009 <sup>3</sup>	<0.001 <sup>3</sup>
Desirable	76 (37.3)	128 (62.7)	0.924 <sup>2</sup>	85 (38.8)	134 (61.2)	0.506 <sup>2</sup>	0.139 <sup>3</sup>	0.423 <sup>3</sup>
Undesirable	57 (37.7)	94(62.3)		48 (35.3)	88 (64.7)			

FTO: fat mass and obesity-associated; WC: waist circumference; WHR: waist-to-height ratio; BMI: body mass index; BF%: body fat percentage. <sup>1</sup>Mann-Whitney test; <sup>2</sup> Qui-square test; <sup>3</sup> Wilcoxon test; <sup>4</sup>Median and interquartile range.

No significant results were identified for intragroup Z-score (Table 3) and intergroup, as well as for  $\Delta$  Z-score.

Table 3. Intragroup comparison of genotypes rs9939609 polymorphism (FTO gene), for periods as to Z-score of anthropometric and body composition variables, in schoolchildren from Southern Brazil.

Variables	TT		p <sup>1</sup>	AT+AA		p <sup>1</sup>
	2011/12	2014/15		2011/12	2014/15	
WC Z-escore	-0.39 (-0.78;0.53)	-0.20 (-0.75;0.33)	0.326	-0.13 (-0.62;0.66)	-0.19 (-0.61;0.77)	0.963
WHtR Z-escore	-0.24 (-0.71;0.41)	-0.22 (-0.56;0.45)	0.450	-0.14 (-0.64;0.64)	-0.21 (-0.66;0.80)	1.000
BMI Z-escore	-0.28 (-0.80;0.45)	-0.28 (-0.61;0.44)	0.644	-0.22 (-0.65; 0.72)	-0.13 (-0.65;0.61)	0.222
BF% Z-escore	-0.24 (-0.84;0.70)	-0.09 (-0.71;0.68)	0.572	-0.12 (-0.71;0.62)	-0.12 (-0.76;0.72)	0.398

FTO: fat mass and obesity-associated; WC: waist circumference; WHtR: waist-to-height ratio; BMI: body mass index; BF%: body fat percentage; <sup>1</sup>Wilcoxon test.

## DISCUSSION

The purpose of the present study was to evaluate the nutritional status of children and adolescents within three years, including measures of total and central obesity. The findings reveal the increase in absolute values of WC and BMI and reduction of BF% for both genotypes. There were no differences between the periods for Z-scores or  $\Delta$  Z-score. The groups with A allele (AT + AA) presented a higher proportion of students with cardiovascular risk by WC in the period 2014/15.

The issue of obesity in Brazil is relevant, since it's among the ten countries that concentrate more than 50% of obese in world (12). In Brazil, the secular tendency indicates an increase in occurrence of overweight between 1974 to 2009. The distribution of this condition by age group reveals that children present higher frequencies when compared to adolescents (47.8% versus 25.4%) (13). Ng et al. (12) performed a survey that included BMI measures of individuals from 188 countries. The findings reveal a reduction in prevalence of overweight and obesity from childhood to adolescence. Comparatively, there is a reduction from 5-9 years to 10-14 years, which intensifies at 15-19 years of age. No significant reduction in frequencies

of obesity markers, both total and central obesity, was observed in comparison of 2011/12 and 2014/15 periods in our study.

The variation in obesity frequency among children and adolescents has been related to pubertal stage. Data from Romanian population indicate that prepubertal and early puberty children and adolescents were 3.9 times more likely to be overweight when compared to postpubertal. Between 6 and 12 years (prepubertal/early puberty) the frequencies of overweight ranged from 34.2% to 33.8% and in adolescents 15 to 19 years (late puberty/postpubertal) between 18.1 % to 13.6% (14). The complex relationships between hormonal regulation, nutrition and adiposity associated with physical and pubertal development still need to be deepened (15).

The absolute values of WC and BMI increased in all genotypes, an expected result, considering the variables evolution in this age group. However, this increase was not reflected in standardized coefficients, since no intragroup and intergroup differences were identified for Z-scores. Finnish children and adolescents were evaluated for rs9939609 polymorphism (FTO gene) from the first year of life. The authors indicate that between 7 and 15 years of age an effect of homozygote A allele was observed on BMI values when compared to those with at least one T allele. The same behavior was observed for WC (AA: 75.2 cm and AT+TT: 72.5 cm  $p = 0.05$ ) (16).

In Brazilian infant and juvenile population studies, the results are divergent. In the present study it was possible to infer relationship between the risk allele of rs9939609 polymorphism (FTO gene) and obesity assessed by WC in 2014/15, without differences when performing intragroup comparisons. The absence of association was reported by Pereira et al. (17), who evaluated AKT1, FTO and AKTIP polymorphisms. When accompanying 348 children, Silva et al. (2) identified two milestones: at age 4, higher Z-score means for AA genotype; at age 8, also observed increased subcutaneous fat for the same genotype. Santa Cruz

do Sul-RS schoolchildren were previously identified in a cross-sectional study, associated with obesity outcome for the homozygous A allele. In this genotype, an association of overweight with a family history of obesity was reported (11). The scientific evidence on the contribution of polymorphism investigated here is mainly related to Caucasian populations (18), and the Brazilian ethnic composition allows regional differences for association with the outcome of obesity (17). Our sample consisted of 79.4% students who described themselves as white.

It is important to consider that obesity is a complex and multifactorial condition. Therefore, in addition to genetic susceptibility, environmental interaction has been widely investigated. In this context, we found differences in genotypes distribution by school region, in which schoolchildren from rural regions had a higher proportion of the AT + AA genotype. However, in Brazil, living in rural areas seems to be one of the protective elements to risk of being overweight, since this condition is more frequent in children and adolescents living in urban areas (13,19). Such findings have been associated with active leisure and less time spent in sedentary behaviors, such as screen time (20), and eating behavior (21). The level of physical activity is controversial (20,22).

It's pointed out as a limitation the fact that we didn't consider the contributory mechanisms for the expression of body composition, such as food consumption and time spent in practice of physical exercise. In addition, there are other simple nucleotide polymorphisms in FTO gene, which may be associated with the risk of obesity (16). However, the present study deepens the theme in an age group that included children and adolescents, with use of measures of total and central obesity. Still, it contemplated an interval of three years, amplifying the information of risk allele influence at different ages.

No differences were observed in nutritional status values in Z-scores between TT and AT + AA genotypes, in intragroup and intergroup analyzes. For WC classification in 2014/15, students with AT + AA genotype presented more frequency of high risk.

**Acknowledgements**

To Miria Suzana Burgos (*in memoriam*), for having entrusted the use of data collected in previous research, under her coordination.

**Funding**

Universidade de Santa Cruz do Sul and Programa Casadinho/Procad (MCT/CNPq/MEC/Capes).

## REFERENCES

1. Mei H, Chen W, Srinivasan SR, Jiang F, Schork N, Murray S, et al. FTO influences on longitudinal BMI over childhood and adulthood and modulation on relationship between birth weight and longitudinal BMI. *Hum Genet.* 2010;128(6):589–96.
2. Silva CF, Zandoná MR, Vitolo MR, Campagnolo PDB, Rotta LN, Almeida S, et al. Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. *BMC Med Genet.* 2013;14(1):1–8.
3. Abdelmajed SS, Youssef M, Zaki ME, Abu-Mandil Hassan N, Ismail S. Association analysis of FTO gene polymorphisms and obesity risk among Egyptian children and adolescents. *Genes Dis* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;4(3):170–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gendis.2017.06.002>
4. Tanner JM. Growth at adolescence: with a general consideration of effects of hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth of maturity. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Scientific Publishers; 1962.
5. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr.* 2004;145(4):439–44.
6. Khoury M, Manhiot C, McCrindle BW. Role of the waist/height ratio in the cardiometabolic risk assessment of children classified by body mass index. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(8):742–51.
7. World Health Organization. BMI-for-age (5-19 years) [Internet]. 2007 [cited 2018 Jul 9]. Available from: [http://www.who.int/growthref/who2007\\_bmi\\_for\\_age/en/](http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/)
8. Slaughter AMH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Loan MDVAN, et al. Skinfold Equations for Estimation of Body Fatness in Children and Youth

- Published by: Wayne State University Press Stable URL:  
<http://www.jstor.org/stable/41464064>. Hum Biol. 2013;60(5):709–23.
9. Lohman TG. The Use of Skinfold to Estimate Body Fatness on Children and Youth. J Phys Educ Recreat Danc [Internet]. 1987;58(9):98–103. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07303084.1987.10604383>
  10. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.
  11. Reuter CP, Burgos MS, Bernhard JC, Tornquist D, Klinger EI, Borges TS, et al. Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. J Pediatr (Versão em Port [Internet]. Sociedade Brasileira de Pediatria; 2016;92(5):493–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2255553616300404>
  12. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. Lancet. 2014;384(9945):766–81.
  13. Brasil. Pesquisa de orçamentos familiares: Antropometria e estado nutricional de crianças e adolescentes. Rio de Janeiro: IBGE; 2010. 1-130 p.
  14. Chirita-Emandi A, Barbu CG, Cinteza EE, Chesaru BI, Gafencu M, Mocanu V, et al. Overweight and Underweight Prevalence Trends in Children from Romania - Pooled Analysis of Cross-Sectional Studies between 2006 and 2015. Obes Facts. 2016;9(3):206–20.
  15. Addo OY, Miller BS, Lee PA, Hediger ML, Himes JH. Age at hormonal onset of puberty based on luteinizing hormone, inhibin B, and body composition in preadolescent US girls. Pediatr Res. 2014;76(6):564–70.

16. Hakanen M, Raitakari OT, Lehtimäki T, Peltonen N, Pahkala K, Sillanmäki L, et al. FTO genotype is associated with body mass index after the age of seven years but not with energy intake or leisure-time physical activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(4):1281–7.
17. Pereira P de A, Alvim-Soares AM, Sandrim VC, Lanna CMM, Souza-Costa DC, Belo V de A, et al. Lack of association between genetic polymorphism of FTO, AKT1 and AKTIP in childhood overweight and obesity. *J Pediatr (Versão em Port [Internet].* 2016;92(5):521–7.
18. Quan LL, Wang H, Tian Y, Mu X, Zhang Y, Tao K. Association of fat-mass and obesity-associated gene FTO rs9939609 polymorphism with the risk of obesity among children and adolescents: A meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(4):614–23.
19. Fradkin C, Valentini NC, Nobre GC, dos Santos JOL. Obesity and Overweight Among Brazilian Early Adolescents: Variability Across Region, Socioeconomic Status, and Gender. *Front Pediatr [Internet].* 2018;6(April):1–8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2018.00081/full>
20. Regis MF, Oliveira LMFT de, Santos ARM dos, Leonidio A da CR, Diniz PRB, Freitas CMSM de. Urban versus rural lifestyle in adolescents: associations between environment, physical activity levels and sedentary behavior. *Einstein (São Paulo) [Internet].* 2016;14(4):461–7.
21. Louzada MLC, Baraldi LG, Steele EM, Martins APB, Canella DS, Moubarac J-C et al. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Brazilian adolescents and adults. *Preventive Medicine*, 81:9-15, 2015.
22. Santos Silva DA, Petroski EL, Araujo Gaya AC. Secular Changes in Aerobic Fitness Levels in Brazilian Children. *Rev Bras Med Do Esporte.* 2017;23(6):450–4.

### 8.3 Artigo 2 – Português

## **POLIMORFISMO RS9939609 (GENE FTO) ESTÁ ASSOCIADO COM MARCADOR DE OBESIDADE CENTRAL EM ESCOLARES NO INTERVALO DE TRÊS ANOS**

## **RS9939609 POLYMORPHISM (FTO GENE) IS ASSOCIATED WITH CENTRAL OBESITY MARKER IN SCHOOLS AT A THREE-YEAR INTERVAL**

Éboni Marília Reuter<sup>a,b,1\*</sup>, Cézane Priscila Reuter<sup>b,2</sup>, Elza Daniel de Mello<sup>a,3</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Rua Ramiro Barcelos, 2400 sala 220, 90035003. Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>b</sup>Departamento de Educação Física e Saúde. Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). Avenida Independência, 2293, bloco 34, sala 3430 - Universitário, 96815-900. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

<sup>1</sup> E-mail: [ebonireuter@unisc.br](mailto:ebonireuter@unisc.br).

<sup>2</sup> E-mail: [cezanereuter@unisc.br](mailto:cezanereuter@unisc.br).

<sup>3</sup> E-mail: [emello@hcpa.edu.br](mailto:emello@hcpa.edu.br).

#### **\*Autor correspondente**

Departamento de Educação Física e Saúde. Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC.

Avenida Independência, 2293 – bloco 34, sala 3430. Telefone: +55 (51) 982457292. E-mail:

[ebonireuter@unisc.br](mailto:ebonireuter@unisc.br)

Conflito de interesses: Não há.

Artigo elaborado nas normas do periódico *Obesity Research & Clinical Practice*.

## RESUMO

O objetivo foi associar a presença do polimorfismo rs9939609, do gene FTO (*fat mass and obesity associated gene*), com a incidência de obesidade, em escolares no intervalo de três anos. Estudo longitudinal realizado numa cidade do estado situado no extremo Sul do Brasil, com 355 escolares em idades entre 7 a 15 anos em 2011/12, e entre 9 a 17 em 2014/15. A obesidade foi classificada por quatro marcadores: circunferência da cintura (CC), razão cintura-estatura (RCE), índice de massa corporal (IMC) e percentual de gordura corporal (%G). O polimorfismo rs9939609 (gene FTO) foi genotipado por cadeia da polimerase em tempo real, com sondas TaqMan. Foi calculado o risco relativo (RR) pela regressão de Poisson, com intervalos de confiança (IC) para 95%. Foi determinado como grupo de risco os genótipos com alelo A, sendo os modelos ajustados por sexo, cor da pele, região escolar e estágio puberal dos escolares. Considerando a evolução do estado nutricional entre 2011/12 e 2014/15, o RR de apresentar CC em valores indicativos de obesidade, ou de manter-se nessa condição, foi maior em escolares com genótipo AT/AA. Para a CC, o RR foi de 1,66 (IC: 1,07-2,58) na análise bruta e 1,11 (IC: 1,03-1,20) na ajustada. Foi identificada associação entre polimorfismo rs9939609 (gene FTO) e obesidade central, indicando que o alelo A contribui com o aumento da adiposidade abdominal em crianças e adolescentes.

**Palavras-chave:** Obesidade Pediátrica, Polimorfismo de Nucleotídeo Único, Proteína Associada a Massa de Gordura e Obesidade

## ABSTRACT

The objective was to associate the presence of rs9939609 polymorphism, of fat mass and obesity associated gene (FTO gene), with obesity incidence, in schoolchildren at a three years interval. Longitudinal study carried out in a city located in extreme south of Brazil, with 355 schoolchildren aged seven to 15 years in 2011/12 and nine to 17 in 2014/15. Obesity was classified by four markers: waist circumference (WC), waist-to-height ratio (WHtR), body mass index (BMI) and body fat percentage (BF%). The rs9939609 polymorphism (FTO gene) was genotyped by polymerase chain reaction in real time, with TaqMan probes. Relative risk (RR) was calculated by Poisson regression, with confidence intervals (CI) to 95%. Risk group was determined the genotypes with allele A, and models were adjusted by sex, skin color, region of residence and pubertal stage of students. Considering evolution of nutritional status between 2011/12 and 2014/15, the RR of having WC in values indicative of obesity, or remaining in this condition, was higher in students with AT/AA genotype. For WC, the RR was 1.66 (CI: 1.07-2.58) in crude analysis and 1.11 (CI: 1.03-1.20) in adjusted. An association between rs9939609 polymorphism (FTO gene) and central obesity was identified, indicating that A allele contributes to increase of abdominal adiposity in children and adolescents.

**Keywords:** *Pediatric Obesity, Single Nucleotide Polymorphism, fat mass and obesity associated gene protein*

## 1 INTRODUÇÃO

Dos mecanismos que contribuem para a obesidade, os fatores não modificáveis incluem as condições intrauterinas, a etnia e a genética. A obesidade monogênica é uma condição rara, sendo a contribuição da genética resultante geralmente da combinação de alterações em uma variedade de genes. O gene associado à massa gorda e obesidade (FTO; *fat mass and obesity associated gene*) já foi reportado na literatura relacionado à obesidade [1,2]. O polimorfismo de nucleotídeo simples rs9939609 (SNP; *single nucleotide polymorphisms*) é amplamente pesquisado devido ao seu efeito sobre o aumento do índice de massa corporal (IMC), estando estabelecida sua relação com o excesso de peso em caucasianos [3]. Frayling e colaboradores [4] revelaram, em seu estudo, que adultos com genótipo AA apresentam uma probabilidade aumentada para obesidade em 1,67 vezes e são aproximadamente 3 kg mais pesados, ao serem comparados aos com genótipo TT. Os autores também referiram que a associação entre o FTO e a obesidade já tem sido descrita a partir dos 7 anos de idade [4].

Em crianças e adolescentes, dados sugerem que o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) influencia o risco de obesidade. Tais achados são consistentes para a população caucasiana [5] com comportamento similar reportado em orientais [3]. No Brasil, os resultados são controversos [6–8]. Não há uma definição de como este fator de risco se comporta ao longo do tempo no monitoramento do estado nutricional, pois são escassos os estudos que acompanham a contribuição da genética durante a fase de desenvolvimento em crianças e adolescentes [9]. É nesse contexto que o objetivo do presente estudo foi associar a presença do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) com marcadores de obesidade em escolares acompanhados, em dois períodos, num intervalo de três anos.

## 2 MÉTODO

Escolares com idades de sete a 17 anos do município localizado no interior do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, foram avaliados nos anos de 2011/12 e 2014/15. Aqueles que compareceram em ambas as avaliações foram selecionados, compondo um estudo longitudinal retrospectivo. Para este estudo, os escolares deveriam ter realizado coleta de sangue com determinação do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em um dos momentos, e dados completos de antropometria e de composição corporal nas duas avaliações. A pesquisa foi apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade de Santa Cruz do Sul, número do parecer 1.836.983. O processo de amostragem foi descrito anteriormente [10]. O tamanho amostral foi definido no programa WinPEPI (versão 11.43), considerando um  $\alpha$  0,05 e poder de 90%, o qual resultou em 115 escolares em cada grupo. Com adição de 15% (perdas), foi definido um total de 133 escolares.

A obesidade foi determinada por medidas de circunferência da cintura (CC), razão cintura-estatura (RCE), índice de massa corporal (IMC) e percentual de gordura corporal (%G). As variáveis antropométricas e de composição corporal foram avaliadas com o mesmo protocolo nos dois períodos selecionados.

A CC foi aferida na menor circunferência entre a crista ilíaca e a última costela [11], com o valor categorizado pelo percentil 75, considerando sexo e idade [12]. A RCE foi calculada a partir dos valores da CC e estatura, ambas em centímetros, adotando para obesidade central o ponto de corte de  $\geq 0,50$  [13]. Com o peso em quilogramas e estatura em metros, foi calculado o IMC, definida a presença de obesidade quando percentil  $\geq 85$  [14]. E para estimativa do %G, o compasso de Lange® foi utilizado para mensurar as dobras cutâneas tricriptal e subscapular. Na sequência, foi aplicado a equação de Slaughter e colaboradores [15] e a

classificação de Lohman [16], sendo considerada a presença de obesidade a partir de ‘moderadamente alto’.

Para padronização, todas as variáveis foram dicotomizadas em ‘eutrofia’ e ‘obesidade’, conforme os pontos de corte. Foi observado o comportamento do estado nutricional entre os períodos, sendo definido a evolução em: eutrofia-eutrofia, eutrofia-obesidade, obesidade-obesidade e obesidade-eutrofia.

O polimorfismo rs9939609 (gene FTO) foi genotipado utilizando sondas TaqMan™, por meio da técnica da cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, previamente descrita por Reuter e colaboradores [6].

Como variáveis confundidoras, foram considerados sexo (feminino/masculino), cor da pele (branco/outras etnias), região escolar (urbana/rural) e estágio puberal (estágios 1, 2, 3, 4 e 5) [17]. A cor da pele foi questionada conforme preconiza o Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa [18], posteriormente reclassificada, uma vez que a região avaliada é predominantemente de colonização alemã. Em estudo anterior, na mesma região, 74,9% dos escolares se autodeclararam brancos [6].

Nas análises, o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) foi definido a partir do alelo A de risco (grupo AT/AA grupo TT). Foi testado o equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ). O teste de McNemar foi utilizado na comparação intragrupo para aferir a evolução dos sujeitos nos períodos. Para estimar a associação entre a obesidade e o polimorfismo rs9939609, o risco relativo (RR) foi calculado pela regressão de Poisson com variância robusta, com intervalo de confiança (IC) de 95%. Para o desfecho, a categoria de referência foi ‘eutrofia’ para cada medida do estado nutricional. Foi considerado como fator de risco para o desfecho a presença do alelo A do polimorfismo rs9939609 (gene FTO). Os modelos foram ajustados por sexo, cor da pele, região escolar e estágio puberal. Os dados foram expressos em frequência absoluta e relativa.

### 3 RESULTADOS

Inicialmente 469 sujeitos foram identificados nos bancos de dados, 114 excluídos por não terem a determinação do polimorfismo rs9939609 (gene FTO). Para análise final, 355 escolares (199 do sexo feminino), com o modelo dominante (AT/AA) presente em 222 escolares. Os genótipos TT e AT/AA foram homogêneos para sexo, idade e cor da pele, na comparação entre os períodos ( $p \geq 0,05$ ). Em 2011/12 foram avaliadas escolares entre 7 a 15 anos e em 2014/15 de 9 a 17 anos de idade.

Não foram identificadas diferenças intragrupo, considerando os genótipos TT e AT/AA, nas comparações das medidas do estado nutricional entre os dois períodos. Embora sem significância, foi percebido que a manutenção da obesidade foi superior no genótipo com o alelo de risco, sendo mais evidente na CC (AT/AA: 23,0% e TT: 12,0%) (Tabela 1).

Foi identificada associação entre obesidade avaliada pela CC e polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em 2014/15. Nesse período, escolares com genótipo AT/AA apresentaram 49% de risco para CC aumentada, chegando a 87% quando ajustado para variáveis confundidoras. Quando considerada a evolução dos escolares nos períodos, foi observado o maior risco de desenvolvimento ou manutenção da CC elevada entre os escolares com o alelo de risco para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), tanto para o RR bruto, quanto ajustado. Em um intervalo aproximado de três anos, 4,2% dos escolares identificados com valores recomendáveis de CC passaram a ter obesidade abdominal e 18,9% dos escolares se mantiveram obesos (Tabela 2). Não foram observadas associações entre RCE, IMC e %G com o genótipo de risco para a obesidade (Tabela 3).

## 4 DISCUSSÃO

Com a proposta de relacionar o polimorfismo rs9939609, do gene FTO, com marcadores de obesidade em crianças e adolescentes, foram avaliados escolares de uma região do interior do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Os principais achados indicam que aqueles com o alelo A, homozigoto ou heterozigoto, apresentam maior risco de obesidade abdominal, expresso pela CC. A associação ficou evidente em 2014/15 e na evolução entre 2011/12 e 2014/15.

O constante incremento da ocorrência da obesidade em todo o mundo vem sendo motivo de discussão e há esforços no estabelecimento de estratégias globais, com a finalidade de reduzir a exposição da população ao evento [19]. Entender como interagem os fatores de risco para a obesidade é relevante para o planejamento de tais estratégias. Embora o papel dos elementos modificáveis sejam relevantes para o desenvolvimento e manutenção da obesidade, os fatores genéticos devem ser aprofundados para o entendimento dessa enfermidade na idade infantil [1]. Entre os polimorfismos de um nucleotídeo único descobertos, o polimorfismo rs9939609, do gene FTO, foi o primeiro a ser relacionado à obesidade e é de particular interesse pelo seu forte efeito sobre o IMC, em diversas idades e etnias [3,20].

Evidenciando a influência do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em crianças e adolescentes, uma metanálise [5] incluiu 14.835 participantes (5.000 obesas e 9.853 eutróficos). Os resultados indicaram que crianças e adolescentes com o alelo de risco apresentavam maior risco para obesidade, sendo realizadas diversas combinações entre os genótipos. Os resultados com heterogeneidade menor de 50% ocorreram quando os genótipos AA e AT foram agrupados, com o genótipo TT de referência. Nesta conformação, o risco de obesidade foi de 1,47 para o grupo com alelo A (IC 95%: 1,35-1,59;  $p < 0,01$ ) [5], como para as análises do presente estudo.

Optou-se no presente estudo a investigação deste polimorfismo, relacionado a marcadores de obesidades diversos, sendo tais marcadores de fácil execução e aplicáveis na prática clínica. Nossos achados revelam associação do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) com a CC, divergente de pesquisa com crianças e adolescentes da América do Sul [21]. Ao avaliar chilenos na faixa etária de oito a 14 anos de idade, não foram identificadas diferenças entre os genótipos TT, AT e AA ( $p > 0,05$ ) para as medidas antropométricas e de composição corporal (IMC, CC, RCE, %G e Z-escore IMC). Entre os 115 identificados com obesidade, aqueles com alelo A homozigoto apresentaram maior %G (TT:  $36,5 \pm 6,1\%$ ; AT:  $38,9 \pm 5,8\%$ ; AA:  $42,3 \pm 5\%$ ;  $p = 0,02$ ). O mesmo comportamento se manteve no sexo masculino, quando comparado pela presença ou ausência do alelo de risco ( $34,8 \pm 6,5$  versus  $38,2 \pm 6,6$ ,  $p = 0,05$ ). Meninas eutróficas e que tinham o alelo de risco apresentaram menores valores de RCE quando comparadas aos seus pares TT ( $0,48 \pm 0,05$  versus  $0,44 \pm 0,04$ ;  $p = 0,03$ ) [21]. Em uma coorte conduzida na região metropolitana do Rio Grande do Sul, foi identificado que o polimorfismo foi associado com o Z-escore IMC e a soma das dobras cutâneas, a partir dos quatro e oito anos de idade, respectivamente, mas não à CC [8].

Um dos elementos importantes a serem considerados na avaliação de polimorfismo é a etnia. No Brasil, a definição é realizada por auto identificação. Considerando tal processo, no presente estudo, 79,4% dos sujeitos se declararam brancos, sendo definidos como outras etnias os 18,3% negros (pardos e pretos) e 1,1% amarelos e indígenas, cada. Este dado reflete nos padrões de frequência alélica [5]. Logo, foram encontrados 62,5% de frequência para o alelo de risco para a obesidade, variando de 47,6% para a forma heterozigota e 14,9% homozigota. Esses achados são similares a percentuais descritos para amostras europeias (AT:47% e AA:16%) [4] e diferente de estudos com crianças e adolescentes chinesas (AT: 22,3% e AA: 1,7%) [3]. Desta forma, a associação ainda não está estabelecida em certas etnias, sendo

necessário mais estudos para que se possa estabelecer uma conclusão [22]. A heterogeneidade da população brasileira pode ser uma explicação para diferentes achados publicados [6–8].

Um dos desafios investigados por estudos longitudinais é a definição da idade que o polimorfismo começa a influenciar o estado nutricional. Nos achados do presente estudo foi evidenciado associação entre CC e o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em 2014/15, período que a média de idade da amostra foi de 13 anos. O mesmo polimorfismo já foi associado a alterações no IMC, as quais iniciaram aos sete anos idade e se mantiveram nos anos posteriores [4].

Como limitações da presente pesquisa, destacamos que não foram considerados marcadores de aptidão cardiorrespiratória, que podem estar relacionadas às implicações clínicas, uma vez que parece ser um fator contributivo na saúde dos indivíduos [23] e a evolução do estado puberal. Além disso, já foi reportado que a atividade física influencia na associação entre obesidade infantil e o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) [24]. Por ser um estudo retrospectivo, nos limitamos a comparar os dados que estavam disponíveis e que haviam sido coletados com as mesmas técnicas. Entretanto, destacamos que esse estudo revela dados de escolares em uma fase crítica de crescimento, sendo que o acompanhamento dessas variáveis estado nutricional pode contribuir na compreensão da relação entre o polimorfismo e a evolução da obesidade.

Concluimos que a presença do alelo de risco do polimorfismo rs9939609 (gene FTO), está associada com a obesidade abdominal, expressa pela CC elevada, sugerindo ser um preditor no aumento da gordura abdominal em escolares.

### **Agradecimentos**

À Miria Suzana Burgos (*in memoriam*), por ter confiado o uso dos dados coletados em pesquisas prévias, sob sua coordenação.

## Financiamento

Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc) e Programa Casadinho/Procad (MCT/CNPq/MEC/Capes).

## REFERÊNCIAS

- [1] Ang YN, Wee BS, Poh BK, Ismail MN. Multifactorial Influences of Childhood Obesity. *Curr Obes Rep* 2013;2:10–22. doi:10.1007/s13679-012-0042-7.
- [2] Shabana, Hasnain S. Effect of the common fat mass and obesity associated gene variants on obesity in Pakistani population: A case-control study. *Biomed Res Int* 2015;2015. doi:10.1155/2015/852920.
- [3] Yang M, Xu Y, Liang L, Fu J, Xiong F, Liu G, et al. The Effects of Genetic Variation in FTO rs9939609 on Obesity and Dietary Preferences in Chinese Han Children and Adolescents 2014;9:1–9. doi:10.1371/journal.pone.0104574.
- [4] Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* (80- ) 2007;316:889–94. doi:10.1126/science.1141634.
- [5] Quan LL, Wang H, Tian Y, Mu X, Zhang Y, Tao K. Association of fat-mass and obesity-associated gene FTO rs9939609 polymorphism with the risk of obesity among children and adolescents: A meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19:614–23. doi:10.1016/j.sapharm.2012.04.005\rS1551-7411(12)00065-4 [pii].
- [6] Reuter CP, Burgos MS, Bernhard JC, Tornquist D, Klinger EI, Borges TS, et al. Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. *J Pediatr (Versão Em Port*

- 2016;92:493–8. doi:10.1016/j.jpdp.2016.05.003.
- [7] Pereira P de A, Alvim-Soares AM, Sandrim VC, Lanna CMM, Souza-Costa DC, Belo V de A, et al. Lack of association between genetic polymorphism of FTO, AKT1 and AKTIP in childhood overweight and obesity. *J Pediatr (Versão Em Port)* 2016;92:521–7. doi:10.1016/j.jpdp.2016.07.002.
- [8] Silva CF, Zandoná MR, Vitolo MR, Campagnolo PDB, Rotta LN, Almeida S, et al. Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. *BMC Med Genet* 2013;14:1–8. doi:10.1186/1471-2350-14-34.
- [9] Zhang M, Zhao X, Cheng H, Wang L, Xi B, Shen Y, et al. Age- and sex-dependent association between FTO rs9939609 and obesity-related traits in Chinese children and adolescents. *PLoS One* 2014;9. doi:10.1371/journal.pone.0097545.
- [10] Reuter CP, Burgos MS, Barbian CD, Dagmar J, Renner P, Isabel S, et al. Comparison between different criteria for metabolic syndrome in schoolchildren from southern Brazil. *Eur J Pediatr* 2018:in press. doi:10.1007/s00431-018-3202-2.
- [11] Taylor R, Jones I. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2000:490–5.
- [12] Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr* 2004;145:439–44. doi:10.1016/j.jpeds.2004.06.044.
- [13] Khoury M, Manlhiot C, McCrindle BW. Role of the waist/height ratio in the cardiometabolic risk assessment of children classified by body mass index. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(8):742–51.

- [14] World Health Organization. BMI-for-age (5-19 years) 2007.  
[http://www.who.int/growthref/who2007\\_bmi\\_for\\_age/en/](http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/) (accessed July 9, 2018).
- [15] Slaughter AMH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Loan MDVAN, et al. Skinfold Equations for Estimation of Body Fatness in Children and Youth  
Published by : Wayne State University Press Stable URL :  
<http://www.jstor.org/stable/41464064> . Hum Biol 2013;60:709–23.
- [16] Lohman TG. The Use of Skinfold to Estimate Body Fatness on Children and Youth. J  
Phys Educ Recreat Danc 1987;58:98–103. doi:10.1080/07303084.1987.10604383.
- [17] Tanner JM. Growth at adolescence: with a general consideration of effects of  
hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth of  
maturity. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Scientific Publishers; 1962.
- [18] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores Sociais Mínimos: conceitos.  
[www2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadoresminimos/conceitos.shtm](http://www2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadoresminimos/conceitos.shtm) (accessed July 9, 2018).
- [19] World Health Organization. Facts and figures on childhood obesity 2017.  
<http://www.who.int/end-childhood-obesity/facts/en/> (accessed September 30, 2018).
- [20] 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;60:466–78.  
doi:10.1007/s12020-018-1587-3.
- [21] Obregón Rivas AM, Santos JL, Valladares MA, Cameron J, Goldfield G. Association  
of the FTO fat mass and obesity-associated gene rs9939609 polymorphism with  
rewarding value of food and eating behavior in Chilean children. Nutrition  
2018;54:105–10. doi:10.1016/j.nut.2018.03.001.
- [22] Peng S, Zhu Y, Xu F, Ren X, Li X, Lai M. FTO gene polymorphisms and obesity risk:

- A meta-analysis. *BMC Med* 2011;9:71. doi:10.1186/1741-7015-9-71.
- [23] Ortega FB, Cadenas-Sanchez C, Migueles JH, Labayen I, Ruiz JR, Sui X, et al. Role of Physical Activity and Fitness in the Characterization and Prognosis of the Metabolically Healthy Obesity Phenotype: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Prog Cardiovasc Dis* 2018:#pagerange#. doi:10.1016/J.PCAD.2018.07.008.
- [24] Bordoni L, Marchegiani F, Piangerelli M, Napolioni V, Gabbianelli R. Obesity-related genetic polymorphisms and adiposity indices in a young Italian population. *IUBMB Life* 2017;69:98–105. doi:10.1002/iub.1596.

**Tabela 1.** Comparação da classificação das variáveis antropométricas e de composição corporal entre 2011/12 e 2014/15, de acordo com os genótipos para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em escolares do Sul do Brasil.

2011/12	2014/15	CC	p*	RCE	p*	IMC	p*	%G	p*
Todos		n (%)		n (%)		n (%)		n (%)	
Eutrofia	Eutrofia	248 (69,9)	0,851	275 (77,5)	0,585	188 (53,0)	0,435	165 (46,5)	0,146
Eutrofia	Obesidade	15 (4,2)		17 (4,8)		26 (7,3)		39 (11,0)	
Obesidade	Obesidade	67 (18,9)		50 (14,1)		108 (30,4)		97 (27,3)	
Obesidade	Eutrofia	25 (7,0)		13 (3,7)		33 (9,3)		54 (15,2)	
Genótipo TT		n (%)		n (%)		n (%)		n (%)	
Eutrofia	Eutrofia	99 (74,4)	0,454	110 (82,7)	1,000	73 (54,9)	0,541	62 (46,6)	0,188
Eutrofia	Obesidade	5 (3,8)		4 (3,0)		10 (7,5)		14 (10,5)	
Obesidade	Obesidade	16 (12,0)		15 (11,3)		36 (27,1)		34 (25,6)	
Obesidade	Eutrofia	13 (9,8)		4 (3,0)		14 (10,5)		23 (17,3)	
Genótipos AT/AA*		n (%)		n (%)		n (%)		n (%)	
Eutrofia	Eutrofia	149 (67,1)	0,774	165 (74,3)	0,523	115 (51,8)	0,736	103 (46,4)	0,504
Eutrofia	Obesidade	10 (4,5)		13 (5,9)		16 (7,2)		25 (11,3)	
Obesidade	Obesidade	51 (23,0)		35 (15,8)		72 (32,4)		63 (28,4)	
Obesidade	Eutrofia	12 (5,4)		9 (4,1)		19 (8,6)		31 (14,0)	

CC: circunferência da cintura; RCE: razão cintura-estatura; IMC: índice de massa corporal; %G: percentual de gordura corporal; \*Teste de McNemar. \*Modelo dominante, considerando como risco para obesidade a presença do alelo A.

**Tabela 2.** Risco relativo de obesidade considerando a circunferência da cintura em escolares com e sem a presença do alelo de risco para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em escolares do Sul do Brasil.

Classificação da CC em 2011/12					
	Obesidade	Eutrofia	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	63	159	1,30 (0,89-1,91)	0,28	1,36 (0,93-1,98)
TT	29	104		0,22	
Classificação da CC em 2014/15					
	Obesidade	Eutrofia	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	67	155	1,49 (1,01-2,20)	0,30	1,87 (1,19-2,92)
TT	27	106		0,20	
Classificação da CC considerando o período 2011/12-2014/15					
	Eutrofia -Obesidade ou Obesidade-Obesidade <sup>a</sup>	Eutrofia - Eutrofia <sup>b</sup>	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	61	149	1,66 (1,07-2,58)	0,29	1,11 (1,03-1,20)
TT	21	99		0,18	
Casos novos de CC elevada em 2014/15					
	Eutrofia -Obesidade	Eutrofia - Eutrofia	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	10	149	1,31 (0,46-3,72)	0,06	1,02 (0,96-1,07)
TT	5	99		0,05	

CC: circunferência da cintura; RR: risco relativo; IC: intervalo de confiança para 95%. <sup>a</sup>Escolares que apresentavam CC saudável e passaram para elevada ou que continuaram com CC elevada; <sup>b</sup>Escolares que continuaram na classe eutrofia. \*Para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), considerando como risco para obesidade a presença do alelo A.

**Tabela 3.** Risco relativo de obesidade considerando a relação cintura-estatura em escolares com e sem a presença do alelo de risco para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), em escolares do Sul do Brasil.

Classificação da RCE em 2011/12					
	Obesidade	Eutrofia	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	44	178	1,39 (0,85-2,27)	0,20	1,06 (0,99-1,13)
TT	19	114		0,14	
Classificação da RCE em 2014/15					
	Obesidade	Eutrofia	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	48	174	1,51 (0,93-2,46)	0,22	1,07 (1,00-1,15)
TT	19	114		0,14	
Classificação da RCE considerando o período 2011/12-2014/15					
	Eutrofia -Obesidade ou Obesidade-Obesidade <sup>a</sup>	Eutrofia - Eutrofia <sup>b</sup>	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	48	165	1,53 (0,94-2,48)	0,22	1,08 (1,00-1,15)
TT	19	110		0,15	
Casos novos de obesidade em 2014/15					
	Eutrofia -Obesidade	Eutrofia - Eutrofia	RR bruto (IC 95%)	Probabilidade de obesidade	RR ajustada
Modelo dominante*					
AT/AA	13	165	2,08 (0,70-6,23)	0,07	1,04 (0,99-1,09)
TT	4	110		0,03	

RCE: relação cintura-estatura; RR: risco relativo; IC: intervalo de confiança para 95%. <sup>a</sup>Escolares que apresentavam RCE saudável e passaram para obesidade ou que continuaram com obesidade; <sup>b</sup>Escolares que continuaram na classe eutrofia. \*Para o polimorfismo rs9939609 (FTO), considerando como risco para obesidade a presença do alelo A.

## 8.4 Artigo 2 – Inglês

### **RS9939609 POLYMORPHISM (FTO GENE) IS ASSOCIATED WITH CENTRAL OBESITY MARKER IN SCHOOLS AT A THREE-YEAR INTERVAL**

#### **Abstract**

The objective was to associate the presence of rs9939609 polymorphism, of fat mass and obesity associated gene (FTO gene), with obesity incidence, in schoolchildren at a three years interval. Longitudinal study carried out in a city located in extreme south of Brazil, with 355 schoolchildren aged seven to 15 years in 2011/12 and nine to 17 in 2014/15. Obesity was classified by four markers: waist circumference (WC), waist-to-height ratio (WHtR), body mass index (BMI) and body fat percentage (BF%). The rs9939609 polymorphism (FTO gene) was genotyped by polymerase chain reaction in real time, with TaqMan probes. Relative risk (RR) was calculated by Poisson regression, with confidence intervals (CI) to 95%. Risk group was determined the genotypes with allele A, and models were adjusted by sex, skin color, region of residence and pubertal stage of students. Considering evolution of nutritional status between 2011/12 and 2014/15, the RR of having WC in values indicative of obesity, or remaining in this condition, was higher in students with AT/AA genotype. For WC, the RR was 1.66 (CI: 1.07-2.58) in crude analysis and 1.11 (CI: 1.03-1.20) in adjusted. An association between rs9939609 polymorphism (FTO gene) and central obesity was identified, indicating that A allele contributes to increase of abdominal adiposity in children and adolescents.

**Keywords:** *Pediatric Obesity, Single Nucleotide Polymorphism, fat mass and obesity associated gene protein*

## 1 INTRODUCTION

Of mechanisms that contribute to obesity, non-modifiable factors include intrauterine conditions, ethnicity and genetics. Monogenic obesity is a rare condition, being the genetics contribution usually resulting from changes combination in a variety of genes. The fat mass and obesity associated gene (FTO) has been reported in literature related to obesity [1,2]. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are widely searched because of their effect on body mass index (BMI) increase, and its relationship with overweight in caucasians has been established [3]. Frayling et al. [4] revealed, in their study, that adults with AA genotype have an increased probability for obesity 1.67 times and are approximately 3 kg heavier, when compared to those with TT genotype. The authors also reported that association between FTO and obesity has already been described from 7 years of age [4].

In children and adolescents, data suggest that rs9939609 (FTO gene) polymorphism influences obesity risk. Such findings are consistent for caucasian population [5] with similar behavior reported in eastern [3]. In Brazil, the results are controversial [6-8]. There is no definition of how this risk factor behaves over time in nutritional status monitoring, since there are few studies that accompany the genetics contribution during development phase of children and adolescents [9]. In this context that the objective of the present study was to associate rs9939609 polymorphism (FTO gene) presence with obesity markers in schoolchildren followed, in two periods, a three-year interval.

## 2 METHOD

Schoolchildren aged seven to 17 years old from municipality located in interior of the State of Rio Grande do Sul, Brazil, were assessed in years 2011/12 and 2014/15. Those who

attended both evaluations were selected, composing a retrospective longitudinal study. For this study, students should have performed blood collection with rs9939609 polymorphism (FTO gene) determination at one of moments, and complete anthropometry and body composition data of two evaluations. The research was appreciated by Committee of Ethics in Research with Human Beings of the University of Santa Cruz do Sul, protocol number 1.836.983. Sampling process was previously described [10]. Sample size was defined in WinPEPI program (version 11.43), considering  $\alpha$  0.05 and 90% power, which resulted in 115 students in each group. With addition of 15% (losses), a total of 133 students were defined.

Obesity was determined by measures of waist circumference (WC), waist-to-height ratio (WHtR), body mass index (BMI) and body fat percentage (BF%). Anthropometric and body composition variables were evaluated with same protocol in two selected periods.

WC was measured at the lowest circumference between iliac crest and last rib [11], with value categorized by 75th percentile, considering sex and age [12]. The WHtR was calculated from WC and height values, both in centimeters, adopting for central obesity cutoff point of  $\geq 0.50$  [13]. With weight in kilograms and height in meters, the BMI was calculated, defined as obesity presence when percentile  $\geq 85$  [14]. And for BF% estimation, Lange® compass was used to measure triceps and subscapular skinfolds. Then, Slaughter et al. [15] equation and Lohman [16] classification was applied, considering obesity presence 'moderately high'.

For standardization, all variables were dichotomized in 'eutrophy' and 'obesity', according to cut-off points. It was observed the behavior of nutritional status between periods, being evolution defined in: eutrophy-eutrophy, eutrophy-obesity, obesity-obesity and obesity-eutrophy.

The rs9939609 polymorphism (FTO gene) was genotyped using TaqMan™ probes, using real-time polymerase chain reaction (PCR) technique, previously described by Reuter et al. [6].

As confounding variables, gender (female/male), skin color (white/other ethnicities), school region (urban/rural) and pubertal stage (stages 1, 2, 3, 4 and 5) were considered [17]. Skin color was questioned as recommended by Brazilian Institute of Geography and Research [18], later reclassified, since the region evaluated is predominantly german colonization. In a previous study, in the same region, 74.9% of the students declared themselves white [6].

In analyzes, rs9939609 polymorphism (FTO gene) was defined from risk A allele (AT/AA group TT group). The Hardy-Weinberg equilibrium ( $p > 0.05$ ) was tested. McNemar test was used in intragroup comparison to gauge individuals evolution in periods. To estimate association between obesity and rs9939609 polymorphism, relative risk (RR) was calculated by Poisson regression with robust variance, with 95% confidence interval (CI). For outcome, the reference category was 'eutrophy' for each nutritional status measure. Presence of A allele in rs9939609 polymorphism (FTO gene) was considered a risk factor for outcome. Models were adjusted by gender, ethnicity, school region and pubertal stage. Data was expressed in absolute and relative frequency.

### **3 RESULTS**

Initially 469 subjects were identified in databases, 114 excluded because they didn't have rs9939609 polymorphism (FTO gene). For final analysis, 355 students (199 females), dominant model (AT/AA) were present in 222 students. The TT and AT/AA genotypes were homogeneous for gender, age and skin color, comparing the periods ( $p \geq 0.05$ ). In 2011/12 students were evaluated between seven to 15 years and in 2014/15 from nine to 17 years.

No intragroup differences were identified, considering the TT and AT/AA genotypes, in comparisons of nutritional status between two periods. Although not significant, it was

observed that the maintenance of obesity was superior in the genotype with the risk allele, being more evident in WC (AT/AA: 23.0% and TT: 12.0%) (Table 1).

An association between obesity assessed by WC and rs9939609 polymorphism (FTO gene) was identified in 2014/15. In this period, schoolchildren with AT/AA genotype presented a 49% risk for increased WC, reaching 87% when adjusted for confounding variables. When considering the evolution of schoolchildren in periods, we observed a higher risk of development or maintenance of high WC among schoolchildren with risk allele for rs9939609 polymorphism (FTO gene), for both crude and adjusted RR. In an approximate interval of three years, 4.2% of students identified with recommended WC values had abdominal obesity and 18.9% of schoolchildren remained obese WC (Table 2). There were no associations between WtHR, BMI and BF% with the risk genotype for obesity (Table 3).

#### **4 DISCUSSION**

With proposal to relate rs9939609 polymorphism, of FTO gene, with obesity markers in children and adolescents, students were evaluated from a region of interior of the State of Rio Grande do Sul, Brazil. The main findings indicate that those with A allele, homozygous or heterozygous, present a higher risk of abdominal obesity, expressed by WC. Association was evident in 2014/15 and in evolution between 2011/12 and 2014/15.

Constant increase in obesity occurrence throughout the world has been a subject of discussion and efforts have been made in global strategies establishment, in order to reduce population's exposure to the event [19]. Understanding how obesity risk factors interact is relevant for planning of such strategies. Although the role of modifiable elements is relevant for obesity development and maintenance, genetic factors should be further explored for understanding childhood obesity [1]. Among single nucleotide polymorphisms discovered, the

rs9939609 polymorphism, of FTO gene, was the first to be obesity related and is of particular interest because its strong effect on BMI at various ages and ethnicities [3,20].

Evidence of rs9939609 (FTO gene) polymorphism influence in children and adolescents, a meta-analysis [5] included 14,835 participants (5,000 obese and 9,833 eutrophic). The results indicated that children and adolescents with risk allele had a higher risk for obesity, and several combinations were made between genotypes. Results with heterogeneity less than 50% occurred when the AA and AT genotypes were grouped, with reference TT genotype. In this conformation, the risk of obesity was 1.47 for the group with allele A (CI 95%: 1.35-1.59;  $p < 0.01$ ) [5], as for the analyzes of present study.

We chose to investigate this polymorphism, related to diverse obesity markers, such markers which are easy to perform and applicable in clinical practice. Our findings show an association of rs9939609 polymorphism (FTO gene) with WC, diverging from study with children and adolescents in South America [21]. When evaluating Chileans in eight to 14 age group, no differences were identified between genotypes TT, AT and AA ( $p > 0.05$ ) for anthropometric and body composition measurements (BMI, WC, WtHR, BF% and BMI Z-score). Among the 115 identified with obesity, those with a homozygote allele presented higher BF% (TT:  $36.5 \pm 6.1\%$ , AT:  $38.9 \pm 5.8\%$ , AA:  $42.3 \pm 5\%$ ,  $p = 0.02$ ). Same behavior was observed in males when compared risk allele presence or absence ( $34.8 \pm 6.5$  versus  $38.2 \pm 6.6$ ,  $p = 0.05$ ). Eutrophic girls who had risk allele presented lower values of WtHR when compared to their TT pairs ( $0.48 \pm 0.05$  versus  $0.44 \pm 0.04$ ;  $p = 0.03$ ) [21]. In a cohort conducted in metropolitan region of Rio Grande do Sul, it was identified that the polymorphism was associated with the BMI Z-score and skinfolds sum, from four and eight years of age respectively, but not to WC [8].

One of important elements to be considered in polymorphism evaluation is ethnicity. In Brazil, definition is performed by self-identification. Considering this process, in the present

study, 79.4% of subjects declared themselves white, and 18.3% were defined as blacks (browns and blacks) and 1.1% were yellow and indigenous, each. This data reflects in allelic frequency patterns [5]. Therefore, a 62.5% frequency risk allele for obesity was found, ranging from 47.6% to the heterozygous form and 14.9% homozygous. These findings are similar to percentages reported for European samples (AT: 47% and AA: 16%) [4] and different from studies with Chinese children and adolescents (TA: 22.3% and AA: 1.7%) [3]. Thus, the association is not yet established in certain ethnicities, and further studies are needed in order to establish a conclusion [22]. The heterogeneity of Brazilian population may be an explanation for different published findings [6-8].

One of the challenges investigated by longitudinal studies is age definition that polymorphism begins to influence nutritional status. In findings of the present study it was evidenced an association between WC and rs9939609 polymorphism (FTO gene) in 2014/15, period that the mean age of sample was 13 years. Same polymorphism was associated with changes in BMI, which began at age seven and remained in later years [4].

As limitations of the present research, we emphasize that they were not considered markers of cardiorespiratory fitness, which may be related to clinical implications, since it seems to be a contributory factor in individuals' health [23], and pubertal state evolution. In addition, it has been reported that physical activity influences association between childhood obesity and rs9939609 polymorphism (FTO gene) [24]. Because it was a retrospective study, we simply compare data that was available that had been collected using same techniques. However, we highlight that this study reveals data from schoolchildren in a critical phase of growth, and monitoring these nutritional status may contribute to understanding the relationship between polymorphism and obesity evolution.

We conclude that the presence of risk allele of rs9939609 (FTO gene) polymorphism is associated with abdominal obesity, expressed by elevated WC, suggesting to be a predictor of increased abdominal fat in schoolchildren.

### **Acknowledgements**

To Miria Suzana Burgos (*in memoriam*), for having entrusted the use of data collected in previous research, under her coordination.

### **Funding**

Universidade de Santa Cruz do Sul and Programa Casadinho/Procad (MCT/CNPq/MEC/Capes).

### **REFERENCES**

- [1] Ang YN, Wee BS, Poh BK, Ismail MN. Multifactorial Influences of Childhood Obesity. *Curr Obes Rep* 2013;2:10–22. doi:10.1007/s13679-012-0042-7.
- [2] Shabana, Hasnain S. Effect of the common fat mass and obesity associated gene variants on obesity in Pakistani population: A case-control study. *Biomed Res Int* 2015;2015. doi:10.1155/2015/852920.
- [3] Yang M, Xu Y, Liang L, Fu J, Xiong F, Liu G, et al. The Effects of Genetic Variation in FTO rs9939609 on Obesity and Dietary Preferences in Chinese Han Children and Adolescents 2014;9:1–9. doi:10.1371/journal.pone.0104574.
- [4] Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* (80- ) 2007;316:889–94.

- doi:10.1126/science.1141634.
- [5] Quan LL, Wang H, Tian Y, Mu X, Zhang Y, Tao K. Association of fat-mass and obesity-associated gene FTO rs9939609 polymorphism with the risk of obesity among children and adolescents: A meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19:614–23. doi:10.1016/j.sapharm.2012.04.005\rs1551-7411(12)00065-4 [pii].
- [6] Reuter CP, Burgos MS, Bernhard JC, Tornquist D, Klinger EI, Borges TS, et al. Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. *J Pediatr (Versão Em Port)* 2016;92:493–8. doi:10.1016/j.jpdp.2016.05.003.
- [7] Pereira P de A, Alvim-Soares AM, Sandrim VC, Lanna CMM, Souza-Costa DC, Belo V de A, et al. Lack of association between genetic polymorphism of FTO, AKT1 and AKTIP in childhood overweight and obesity. *J Pediatr (Versão Em Port)* 2016;92:521–7. doi:10.1016/j.jpdp.2016.07.002.
- [8] Silva CF, Zandoná MR, Vitolo MR, Campagnolo PDB, Rotta LN, Almeida S, et al. Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. *BMC Med Genet* 2013;14:1–8. doi:10.1186/1471-2350-14-34.
- [9] Zhang M, Zhao X, Cheng H, Wang L, Xi B, Shen Y, et al. Age- and sex-dependent association between FTO rs9939609 and obesity-related traits in Chinese children and adolescents. *PLoS One* 2014;9. doi:10.1371/journal.pone.0097545.
- [10] Reuter CP, Burgos MS, Barbian CD, Dagmar J, Renner P, Isabel S, et al. Comparison between different criteria for metabolic syndrome in schoolchildren from southern Brazil. *Eur J Pediatr* 2018:in press. doi:10.1007/s00431-018-3202-2.
- [11] Taylor R, Jones I. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy

- X-ray. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2000:490–5.
- [12] Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr* 2004;145:439–44. doi:10.1016/j.jpeds.2004.06.044.
- [13] Khoury M, Manhiot C, McCrindle BW. Role of the waist/height ratio in the cardiometabolic risk assessment of children classified by body mass index. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(8):742–51.
- [14] World Health Organization. BMI-for-age (5-19 years) 2007. [http://www.who.int/growthref/who2007\\_bmi\\_for\\_age/en/](http://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/) (accessed July 9, 2018).
- [15] Slaughter AMH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Loan MDVAN, et al. *Skinfold Equations for Estimation of Body Fatness in Children and Youth*. Published by : Wayne State University Press Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/41464064> . *Hum Biol* 2013;60:709–23.
- [16] Lohman TG. The Use of Skinfold to Estimate Body Fatness on Children and Youth. *J Phys Educ Recreat Danc* 1987;58:98–103. doi:10.1080/07303084.1987.10604383.
- [17] Tanner JM. *Growth at adolescence: with a general consideration of effects of hereditary and environmental factors upon growth and maturation from birth of maturity*. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Scientific Publishers; 1962.
- [18] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Indicadores Sociais Mínimos: conceitos*. <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadoresminimos/conceitos.shtm> (accessed July 9, 2018).
- [19] World Health Organization. *Facts and figures on childhood obesity 2017*. <http://www.who.int/end-childhood-obesity/facts/en/> (accessed September 30, 2018).
- [20] 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;60:466–78. doi:10.1007/s12020-018-1587-3.
- [21] Obregón Rivas AM, Santos JL, Valladares MA, Cameron J, Goldfield G. Association of the FTO fat mass and obesity–associated gene rs9939609 polymorphism with rewarding value of food and eating behavior in Chilean children. *Nutrition* 2018;54:105–10. doi:10.1016/j.nut.2018.03.001.
- [22] Peng S, Zhu Y, Xu F, Ren X, Li X, Lai M. FTO gene polymorphisms and obesity risk: A meta-analysis. *BMC Med* 2011;9:71. doi:10.1186/1741-7015-9-71.
- [23] Ortega FB, Cadenas-Sanchez C, Migueles JH, Labayen I, Ruiz JR, Sui X, et al. Role of Physical Activity and Fitness in the Characterization and Prognosis of the Metabolically Healthy Obesity Phenotype: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Prog Cardiovasc Dis* 2018:#pagerange#. doi:10.1016/J.PCAD.2018.07.008.
- [24] Bordoni L, Marchegiani F, Piangerelli M, Napolioni V, Gabbianelli R. Obesity-related genetic polymorphisms and adiposity indices in a young Italian population. *IUBMB Life* 2017;69:98–105. doi:10.1002/iub.1596.

**Table 1.** Comparison of anthropometric variables and body composition classification between 2011/12 and 2014/15, according to genotypes for polymorphism rs9939609 (FTO gene), in schoolchildren from southern Brazil.

2011/12	2014/15	WC	p*	WHtR	p*	BMI	p*	BF%	p*
		n (%)		n (%)		n (%)		n (%)	
All									
Eutrophy	Eutrophy	248 (69.9)		275 (77.5)		188 (53.0)		165 (46.5)	
Eutrophy	Obesity	15 (4.2)	0.851	17 (4.8)	0.585	26 (7.3)	0.435	39 (11.0)	0.146
Obesity	Obesity	67 (18.9)		50 (14.1)		108 (30.4)		97 (27.3)	
Obesity	Eutrophy	25 (7.0)		13 (3.7)		33 (9.3)		54 (15.2)	
TT Genotype		n (%)		n (%)		n (%)		n (%)	
Eutrophy	Eutrophy	99 (74.4)		110 (82.7)		73 (54.9)		62 (46.6)	
Eutrophy	Obesity	5 (3.8)	0.454	4 (3.0)	1.000	10 (7.5)	0.541	14 (10.5)	0.188
Obesity	Obesity	16 (12.0)		15 (11.3)		36 (27.1)		34 (25.6)	
Obesity	Eutrophy	13 (9.8)		4 (3.0)		14 (10.5)		23 (17.3)	
AT/AA Genotype **		n (%)		n (%)		n (%)		n (%)	
Eutrophy	Eutrophy	149 (67.1)		165 (74.3)		115 (51.8)		103 (46.4)	
Eutrophy	Obesity	10 (4.5)	0.774	13 (5.9)	0.523	16 (7.2)	0.736	25 (11.3)	0.504
Obesity	Obesity	51 (23.0)		35 (15.8)		72 (32.4)		63 (28.4)	
Obesity	Eutrophy	12 (5.4)		9 (4.1)		19 (8.6)		31 (14.0)	

WC: waist circumference; WHtR: waist-to-height ratio; BMI: body mass index; BF%: body fat percentage. \* McNemar's Test. \*\* Dominant model, considering as obesity risk the presence of A allele.

**Table 2.** Relative risk of obesity considering waist circumference in schoolchildren with and without presence of risk allele for rs9939609 polymorphism (FTO gene), in schoolchildren from southern Brazil.

WC classification in 2011/12					
	Obesity	Eutrophy	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	63	159	1.30 (0.89-1.91)	0.28	1.36 (0.93-1.98)
TT	29	104		0.22	
WC classification in 2014/15					
	Obesity	Eutrophy	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	67	155	1.49 (1.01-2.20)	0.30	1.87 (1.19-2.92)
TT	27	106		0.20	
WC classification considering the period 2011/12-2014/15					
	Eutrophy - Obesity or Obesity - Obesity <sup>a</sup>	Eutrophy - Eutrophy <sup>b</sup>	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	61	149	1.66 (1.07-2.58)	0.29	1.11 (1.03-1.20)
TT	21	99		0.18	
New cases of high WC in 2014/15					
	Eutrophy - Obesity	Eutrophy - Eutrophy	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	10	149	1.31 (0.46-3.72)	0.06	1.02 (0.96-1.07)
TT	5	99		0.05	

WC: waist circumference; RR: relative risk; CI: confidence interval. <sup>a</sup>Schoolchildren who had healthy WC and became elevated or continued with WC elevated; <sup>b</sup>Schoolchildren who continued in eutrophy class. \*For rs9939609 polymorphism (FTO gene), considering as obesity risk the presence of A allele.

**Table 3.** Relative risk of obesity considering waist-to-height ratio in schoolchildren with and without presence of risk allele for rs9939609 polymorphism (FTO gene), in schoolchildren from southern Brazil.

WHtR classification in 2011/12					
	Obesity	Eutrophy	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	44	178	1.39 (0.85-2.27)	0.20	1.06 (0.99-1.13)
TT	19	114		0.14	
WHtR classification in 2014/15					
	Obesity	Eutrophy	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	48	174	1.51 (0.93-2.46)	0.22	1.07 (1.00-1.15)
TT	19	114		0.14	
WHtR classification considering the period 2011/12-2014/15					
	Eutrophy - Obesity or Obesity - Obesity <sup>a</sup>	Eutrophy - Eutrophy <sup>b</sup>	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	48	165	1.53 (0.94-2.48)	0.22	1.08 (1.00-1.15)
TT	19	110		0.15	
New cases of high WHtR in 2014/15					
	Eutrophy - Obesity	Eutrophy - Eutrophy	Crude RR (95% CI)	Obesity probability	Adjusted RR (95% CI)
Dominant model*					
AT/AA	13	165	2.08 (0.70-6.23)	0.07	1.04 (0.99-1.09)
TT	4	110		0.03	

WHtR: waist-to-height ratio; RR: relative risk; CI: confidence interval. <sup>a</sup>Schoolchildren who had healthy WC and became elevated or continued with WC elevated; <sup>b</sup>Schoolchildren who continued in eutrophy class. \*For rs9939609 polymorphism (FTO gene), considering as obesity risk the presence of A allele.

## 9 CONCLUSÕES

O presente estudo contribuiu com achados que incluiu escolares, em idade de transição da infância para adolescência, arrolados em um estudo longitudinal com um intervalo aproximado de três anos, com o foco na obesidade, pela avaliação do estado nutricional e do polimorfismo rs9939609. Quanto aos objetivos:

- Avaliar a relação entre o estado nutricional e o polimorfismo rs9939609 (gene FTO) de crianças e adolescentes em um período de três anos de acompanhamento:

Houve associação entre o estado nutricional e o alelo de risco para obesidade, do polimorfismo rs9939609 (gene FTO). Tal associação foi aferida em escolares, sendo a CC uma medida importante de triagem e monitoramento da obesidade central.

- Comparar os genótipos do polimorfismo rs9939609 (gene FTO) quanto às variáveis do estado nutricional, em 2011/12 e 2014/15:

Foi identificado que escolares com genótipo AT/AA apresentaram maior frequência de alto risco cardiovascular, expressa pela CC. Quando avaliada a presença de obesidade central, aqueles com alelo A apresentaram um risco aumentado, que variou entre 49-87%. Ambos os achados ocorreram no período 2014/15, apenas para a CC.

- Identificar a evolução dos escolares quanto ao estado nutricional, considerando três anos de intervalo:

Para ambos os genótipos, diferenças ocorreram entre os períodos para os valores absolutos de CC, IMC e %G, mas não para seus coeficientes parametrizados. Ainda para esse objetivo, o resultado substancial foi o risco aumentado do genótipo AT/AA transitar da ausência para presença de obesidade, ou manter essa condição.

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É evidente o crescimento da ocorrência da obesidade nas últimas décadas em crianças e adolescentes, em vários países, incluindo o Brasil. Tal condição é realidade em nosso cenário, verificada pelo acompanhamento de marcadores de saúde dos escolares de Santa Cruz do Sul. Pesquisas com esta população iniciaram em 1997, e desde esta data, as variáveis antropométricas e de composição corporal são aferidas sistematicamente para o monitoramento do estado nutricional. A partir dos achados do presente estudo, foi possível identificar que a CC se destacou no seguimento de crianças e adolescentes, relacionada ao polimorfismo rs9939609. O resultado pode estar relacionado às características da CC, como refletir a obesidade abdominal, uma vez que a gordura localizada nesta região influencia o risco metabólico e cardiovascular. Portanto, é um dado tão relevante quanto o IMC, que é o marcador amplamente utilizado para triagem e monitoramento do estado nutricional infantojuvenil.

Ao longo do tempo, as informações coletadas nas pesquisas com os escolares de Santa Cruz do Sul foram incrementadas para além do estado nutricional, incluindo o estilo de vida, histórico familiar, e mais recentemente, a determinação de polimorfismos genéticos. Estas foram inseridas acompanhando as tendências mundiais sobre a temática e contribuem com a literatura, considerando que a população brasileira possui características específicas quanto a etnia, o que impacta na frequência alélica para polimorfismos.

Na sequência da linha de pesquisa “Saúde dos Escolares”, permanecerão na avaliação os marcadores utilizados no presente estudo, através de uma coorte ambispectiva de crianças, adolescentes e adultos jovens. Busca-se avançar na temática, aprofundando parâmetros de atividade física, aptidão cardiorrespiratória e gasto energético, em que o seguimento no intervalo de 8 anos permitirá observar o comportamento dos indicadores de saúde a longo prazo.

## ANEXO A – CARTA DE AUTORIZAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO DOS DADOS

### APÊNDICE A – Carta de autorização para utilização de dados

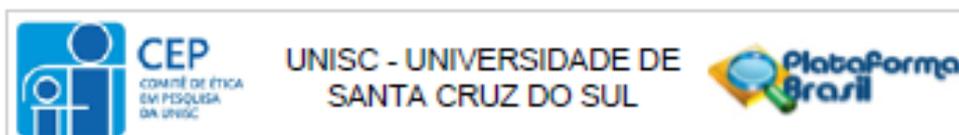
#### CARTA DE AUTORIZAÇÃO

Eu, Miria Suzana Burgos, Docente do Departamento de Educação Física e Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, coordenadora das Pesquisas intituladas “Avaliação de indicadores bioquímicos de saúde de escolares usando espectroscopia no infravermelho, polimorfismos, saúde bucal e fatores relacionados ao estilo de vida: um estudo em Santa Cruz do Sul – Fase II” e “Saúde dos escolares – FASE III. Avaliação de indicadores bioquímicos, genéticos, hematológicos, imunológicos, posturais, somatomotores, saúde bucal, fatores de risco às doenças cardiovasculares e estilo de vida de escolares: um estudo em Santa Cruz do Sul-RS”, aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Seres Humanos da UNISC, respectivamente sob parecer número 2959/2011 e 714.216 e CAAE 0267.0.109.000-11 e 31576714.6.0000.5343, autorizo a Docente Éboni Marília Reuter, do Departamento de Educação Física e Saúde da UNISC, a utilizar os dados referente ao objeto do estudo, em sua pesquisa denominada “Incidência de excesso de peso relacionado ao polimorfismo rs9939609 (gene FTO) em crianças e adolescentes”.

Santa Cruz do Sul, 10 de novembro de 2016.

  
\_\_\_\_\_  
Miria Suzana Burgos

## ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO DA PESQUISA NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** INCIDÊNCIA DE EXCESSO DE PESO RELACIONADO AO POLIMORFISMO rs9939609 (gene FTO) EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

**Pesquisador:** Éboni Marília Reuter

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 62101716.1.0000.5343

**Instituição Proponente:** Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.836.983

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa da docente Éboni Reuter. O projeto busca avaliar se portadores do genótipo de risco para obesidade, para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), apresentam maior incidência de sobrepeso e obesidade e se o comportamento alimentar é diferente, em comparação aos que não possuem genótipo de risco, em um período de três anos. Método: Estudo longitudinal retrospectivo. A população alvo da pesquisa são crianças e adolescentes, com idades entre sete e dezessete anos, de ambos os sexos, matriculados em escolas do município de Santa Cruz do Sul - Rio Grande do Sul. A amostra selecionada é proveniente de dois bancos de dados, sendo considerados os alunos que compareceram em avaliação física de 2011 e retomaram no ano de 2014.

#### Objetivo da Pesquisa:

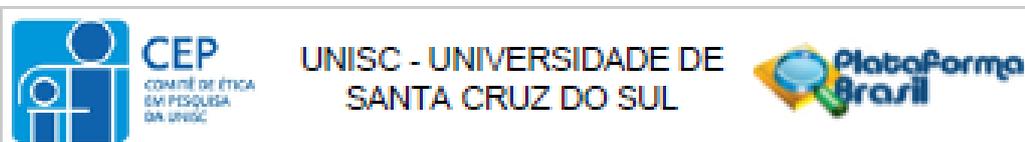
##### Objetivo Primário:

Avaliar se portadores do genótipo de risco para obesidade, para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), apresentam maior incidência de sobrepeso e obesidade e se o comportamento alimentar é diferente, em comparação aos que não possuem genótipo de risco, em um período de três anos.

##### Objetivo Secundário:

- Descrever o perfil da amostra quanto aos indicadores de obesidade central – circunferência da

Endereço: Av. Independência, nº 2253 - Bloco 5, sala 603  
 Bairro: Universitário CEP: 96.815-900  
 UF: RS Município: SANTA CRUZ DO SUL  
 Telefone: (51) 3717-7680 E-mail: cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 1.036.903

cintura (CC) e razão cintura/estatura (RCE) – bem como de obesidade total – índice de massa corporal (IMC) e percentual de gordura (%G), nos anos de 2011 e 2014;- Caracterizar a amostra de estudo quanto ao polimorfismo rs9939609 (gene FTO);- Identificar a percepção do consumo alimentar de crianças e adolescentes, observando a

evolução do comportamento nos anos de 2011 e 2014;- Avaliar se portadores do genótipo de risco para obesidade, para o polimorfismo rs9939609 (gene FTO), apresentam maior incidência de consumo de alimentos ricos em açúcares e gorduras, em comparação aos que não possuem genótipo de risco, em um período de três anos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Não há riscos para os participantes, uma vez que trata-se de análises estatísticas dados previamente coletados.

**Benefícios:**

Aprofundamento da relação entre marcador genético e o excesso de peso, resultando em informações da população local – os quais podem subsidiar o planejamento de ações específicas –, bem como avançando os conhecimentos sobre o tema no país.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Não há. Propõe dispensa de TCLE, uma vez que utilizará base de dados secundária.

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

Presentes e adequados.

**Recomendações:**

Não há.

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

Projeto aprovado.

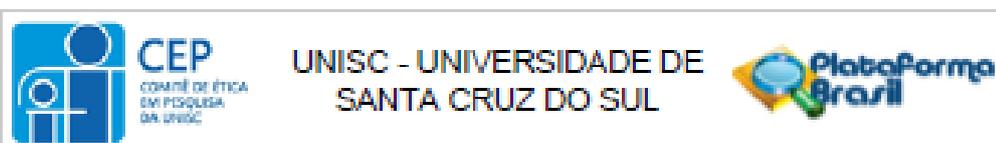
**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto aprovado e em condições de ser executado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_82666-1.pdf	16/11/2016 11:56:49		Aceito

Endereço: Av. Independência, nº 2203 -Bloco 5, sala 603  
 Bairro: Universitário CEP: 96.015-900  
 UF: RS Município: SANTA CRUZ DO SUL  
 Telefone: (51)3717-7880 E-mail: cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 1.030.603

Outros	CartaAceiteMina.pdf	16/11/2016 11:56:07	Éboni Marília Reuter	Aceito
Orçamento	OrcamentoAssinado.pdf	16/11/2016 11:55:13	Éboni Marília Reuter	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCompleto.pdf	16/11/2016 11:54:40	Éboni Marília Reuter	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoAssinada.pdf	16/11/2016 11:54:02	Éboni Marília Reuter	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SANTA CRUZ DO SUL, 25 de Novembro de 2016

---

Assinado por:  
Renato Nunes  
(Coordenador)

Endereço: Av. Independência, nº 2253 -Bloco 5, sala 603  
 Bairro: Universitário CEP: 96.815-900  
 UF: RS Município: SANTA CRUZ DO SUL  
 Telefone: (51)2717-7890 E-mail: cep@unisc.br