



ARTIGO ORIGINAL

Lack of association between genetic polymorphism of *FTO*, *AKT1* and *AKTIP* in childhood overweight and obesity[☆]



Patrícia de Araújo Pereira^{a,1}, Antônio Marcos Alvim-Soares Jr.^{a,*,1},
Valéria Cristina Sandrim^d, Carla Márcia Moreira Lanna^c,
Débora Cristine Souza-Costa^b, Vanessa de Almeida Belo^b, Jonas Jardim de Paula^a,
José Eduardo Tanus-Santos^b, Marco Aurélio Romano-Silva^a
e Débora Marques de Miranda^a

^a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), INCT de Medicina Molecular, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Departamento de Farmacologia, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Universidade Estadual Paulista (Unesp), São Paulo, SP, Brasil

Recebido em 15 de julho de 2015; aceito em 15 de dezembro de 2015

KEYWORDS

Single-nucleotide polymorphisms;
Childhood obesity;
Fat mass and obesity associated;
Gene;
AKT1;
AKTIP

Abstract

Objective: Obesity is a chronic disease caused by both environmental and genetic factors. Epidemiological studies have documented that increased energy intake and sedentary lifestyle, as well as a genetic contribution, are forces behind the obesity epidemic. Knowledge about the interaction between genetic and environmental components can facilitate the choice of the most effective and specific measures for the prevention of obesity. The aim of this study was to assess the association between the *FTO*, *AKT1*, and *AKTIP* genes and childhood obesity and insulin resistance.

Methods: This was a case-control study in which SNPs in the *FTO* (rs99396096), *AKT1*, and *AKTIP* genes were genotyped in groups of controls and obese/overweight children. The study included 195 obese/overweight children and 153 control subjects.

Results: As expected, the obese/overweight group subjects had higher body mass index, higher fasting glucose, HOMA-IR index, total cholesterol, low-density lipoprotein, and triglycerides. However, no significant differences were observed in genes polymorphisms genotype or allele frequencies.

DOI se refere ao artigo:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2015.12.007>

[☆] Como citar este artigo: Pereira PA, Alvim-Soares AM, Sandrim VC, Lanna CM, Souza-Costa DC, Belo VA, et al. Lack of association between genetic polymorphism of *FTO*, *AKT1* and *AKTIP* in childhood overweight and obesity. J Pediatr (Rio J). 2016;92:521–7.

* Autor para correspondência.

E-mail: antonioalvimjr@gmail.com (A.M. Alvim-Soares Jr.).

¹ Ambos os autores contribuíram igualmente para este manuscrito.

PALAVRAS-CHAVE

Polimorfismos de nucleotídeo único; Obesidade infantil; Massa de gordura e obesidade associadas; Gene; *AKT1*; *AKTIP*

Conclusion: The present results suggest that *AKT1*, *FTO*, and *AKTIP* polymorphisms were not associated with obesity/overweight in Brazilian children. Future studies on the genetics of obesity in Brazilian children and their environment interactions are needed.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Falta de associação entre o polimorfismo genético do *FTO*, *AKT1* e *AKTIP* e o sobrepeso e a obesidade infantil

Resumo

Objetivo: A obesidade é uma doença crônica sustentada por fatores ambientais e genéticos. Estudos epidemiológicos documentaram que maior ingestão de energia e um estilo de vida sedentário, bem como a contribuição genética, são forças por trás da epidemia de obesidade. O conhecimento sobre a interação entre os componentes genéticos e ambientais pode facilitar a escolha das medidas mais efetivas e específicas para a prevenção da obesidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre os genes associado à massa de gordura e à obesidade (*FTO*), homólogo 1 do oncogene viral v-akt de timoma murino (*AKT1*) e de ligação *AKT1* (*AKTIP*) e a obesidade infantil e a resistência à insulina.

Métodos: Estudo de caso-controle no qual os polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs) nos genes *FTO* (rs99396096), *AKT1* e *AKTIP* foram genotipados em grupos de controle e de crianças obesas/acima do peso. Foram recrutadas 195 crianças obesas/acima do peso e 153 indivíduos controle.

Resultados: Como esperado, os indivíduos do grupo obeso/acima do peso apresentaram maior índice de massa corporal, maior glicemia de jejum, índice do modelo de avaliação de homeostase (HOMA-IR), colesterol total, lipoproteína de baixa densidade e triglicerídeos. Contudo, não encontramos diferenças significativas no genótipo de polimorfismos gênicos ou nas frequências alélicas.

Conclusão: Nossos resultados sugerem que os polimorfismos *AKT1*, *FTO* e *AKTIP* não estavam associados à obesidade/sobrepeso em crianças brasileiras. São necessários estudos futuros sobre a genética da obesidade em crianças brasileiras e suas interações ambientais.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

A obesidade infantil é um problema de saúde pública em todo o mundo. Nas últimas décadas, as taxas de sobrepeso e obesidade entre crianças aumentaram em grande parte tanto nos países desenvolvidos quanto nos mais pobres.¹ A obesidade é resultado de fatores ambientais que interagem com um histórico poligênico. A herdabilidade varia de 40% a 70%.² Uma análise de metarregressão atual mostrou que a herdabilidade era maior em crianças do que em adultos.³ Estudos de longo prazo mostraram que a obesidade infantil leva ao agrupamento de componentes da síndrome metabólica (SM),⁴ que inclui obesidade abdominal, dislipidemia, resistência à insulina, diabetes tipo II e hipertensão.⁵ É bem sabido que crianças acima do peso e obesas têm um risco maior de se tornar obesas na vida adulta.⁶

Os estudos de associação genômica ampla (GWAS) identificaram que o gene associado à massa de gordura e à obesidade (*FTO*) está associado à adiposidade humana.⁷ O gene *FTO* está relacionado ao risco de obesidade, principalmente o SNP rs9939609, que posteriormente foi confirmado por outros estudos independentes em diferentes populações humanas.⁸⁻¹¹ Devido à relação próxima entre a diabetes e a

obesidade, outro gene interessante é o homólogo 1 do oncogene viral v-akt de timoma murino (*AKT1*), que, acredita-se, media muitos efeitos metabólicos, mitogênicos e antiapoptóticos da insulina, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), IL-3 e outros fatores de crescimento e citocinas.¹²⁻¹⁴ Ademais, o AKT também estimula a captação de glicose e a síntese de glicogênio,¹⁴ bem como a síntese proteica.¹⁵ Vários estudos correlacionam a resistência à insulina a comprometimentos no caminho do AKT e, em algumas doenças, essas alterações podem ser de origem genética. A proteína de ligação *AKT1* (*AKTIP* ou Ft1), localizada próximo ao *FTO* no mesmo locus de risco de GWAS de obesidade no cromossomo 16 (16q12.2),¹⁶ parece ser outro alvo para investigação. A *AKTIP*, como ligante direta do AKT, modula a integração e sinaliza caminhos.¹⁷

O equilíbrio energético é influenciado por uma série de variáveis, como dieta, estruturas sociais, fatores metabólicos, estilo de vida sedentário moderno, abundância de alimentos baratos com alto nível calórico e genética. Provavelmente, a obesidade comum é o resultado de um ambiente adverso obesogênico, que trabalha em um genótipo suscetível.⁴ Até hoje, a evidência dos possíveis

benefícios clínicos de estudos genéticos para doenças complexas comuns tem sido limitada. Mesmo assim, a busca por fatores genéticos envolvidos na obesidade é um desafio e pode fornecer dados extras para responder a essa questão complexa. Por meio dessas observações, desenvolvemos este estudo com o objetivo de investigar a associação estatística de polimorfismos nos genes *FTO*, *AKT1* e *AKTIP* com obesidade infantil em crianças brasileiras.

Métodos

Dados clínicos

Os pais e os filhos foram informados sobre a natureza e o objetivo deste estudo e assinaram um consentimento por escrito. Todas as crianças foram submetidas a um exame físico completo. A estatura foi medida com um estadiômetro de parede, ao passo que o peso corporal foi obtido com uma balança digital. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado com as medições de peso e estatura de acordo com a equação $IMC = \text{peso (kg)} / \text{estatura}^2 \text{ (cm)}$. Os pontos de corte do IMC adotados foram aqueles estabelecidos pela OMS.¹⁸ Sobrepeso e obesidade foram definidos como um IMC superior a desvio padrão de +1 e +2, respectivamente.¹⁹ A pressão arterial foi medida pelo menos duas vezes e a presença de hipertensão foi definida como PAS e/ou PAD acima do 95º percentil.²⁰ Nenhuma das crianças estava sob o uso de medicação.

O perfil lipídico e a glicemia foram determinados em soro e plasma, respectivamente, com kits comerciais de métodos enzimáticos de rotina (Labtest Diagnóstica, S.A., Brasil). Os níveis de insulina foram medidos com um kit (Genese Produtos Diagnósticos, São Paulo, Brasil). A resistência à insulina foi calculada pelo índice do modelo de avaliação de homeostase (HOMA-IR), conforme descrito por Wallace et al.²¹ Até hoje, poucos estudos definiram os níveis de corte para HOMA-IR em indivíduos pré-púberes e púberes. Com base nisso, o HOMA-IR foi testado como uma variável contínua e foi controlado pela situação do IMC dos indivíduos.

O comitê de ética local aprovou este estudo sob o protocolo CAAE 0640000180-7.

Pacientes acima do peso e obesos

Nossa amostra incluiu 195 obesos/acima do peso com média de 11 anos ($\pm 3,9$) (104 meninas), IMC de 26,7 ($\pm 4,5$). Todos foram recrutados do Ambulatório de Endocrinologia do Instituto da Criança e do Adolescente em Juiz de Fora e do Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica da Fundação Instituto Mineiro de Estudo e Pesquisa em Nefrologia (Imepen) em Juiz de Fora e residiam em áreas urbanas.^{22,23}

Grupo de controle

As pessoas no grupo de controle foram cuidadosamente escolhidas da comunidade local e consistiam em 153 pessoas magras e normotensas com média de 11,9 anos ($\pm 3,2$) (91 meninas), IMC de 17,9 ($\pm 2,3$). Todos forneceram um consentimento informado por escrito e o Comitê de Ética da Universidade aprovou os protocolos.

Genotipagem

O DNA genômico foi isolado com o método de teor elevado de sal após a coleta de sangue periférico em tubos a vácuo.²⁴ As sondas selecionadas corresponderam aos seguintes SNPs: *FTO*: rs9939609; *AKTIP*: rs9302648, rs7189819; *AKT1*: rs2494738, rs3730358, rs10149779. Para melhorar o poder estatístico, escolhemos apenas SNPs com menor frequência do alelo $>0,2$ em pessoas brancas e iorubás na base de dados HapMap. A genotipagem foi feita com proteína C reativa (PCR) em tempo real com um 7.500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems Inc., CA, EUA), na modalidade de discriminação alélica. Os protocolos de PCR foram feitos de acordo com as instruções do fabricante do TaqMan® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems, CA, EUA).

Análise estatística

As frequências alélicas, haplotípicas e genotípicas foram comparadas entre grupos com o teste χ^2 e o *software* Unphased (Unphased, v.3.0.13, Cambridge, Reino Unido).²⁵ O teste de 1.000 permutações (teste posterior) foi feito em cada teste para estimar a relevância global de todas as análises e validar os valores de expectativa-maximização. O *software* Haploview (Haploview, v 4.1, Broad Institute, MA, EUA) foi usado para avaliar as matrizes de desequilíbrio de ligação (DL) entre cada SNP para examinar a estrutura em blocos do DL e o equilíbrio de Hardy-Weinberg (corte de 0,05).²⁶ Após a correção de Bonferroni, o nível de significância foi estabelecido em 0,0083 para as comparações do grupo do genótipo x. As características clínicas do grupo de obesos/acima do peso foram comparadas com aquelas das crianças e adolescentes controle por análise de variância (Anova) unidirecional, seguida do teste de Tukey *post hoc*. Para verificar a detecção de interações entre genes associadas a doenças humanas complexas, usamos a redução multifatorial da dimensionalidade (MDR) e a redução multifatorial da dimensionalidade – teste de desequilíbrio (MDR-PDT).²⁷

Pelo menos 10% das amostras foram re-genotipadas aleatoriamente para fins de controle de qualidade, o que minimizou erros de genotipagem. Foi obtida uma concordância de 100% entre os resultados de ambos os testes.

Uma análise secundária testou se os SNPs estudados em nossa pesquisa estavam linearmente associados ao HOMA-IR e ao IMC. Usamos um modelo de regressão linear para testar a relação de cada variável preditora independente (SNP) com cada resultado metabólico (HOMA-IR ou IMC). Várias regressões lineares eram usadas se mais de uma variável preditora mostrasse relação com cada resultado.

Resultados

Seis SNPs foram genotipados em 348 indivíduos. Todos os SNPs estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg e apresentaram menor frequência do alelo (MAF) acima de 10%, o que indica uma boa penetração dos alelos na população.

As características clínicas e laboratoriais dos grupos estudados são apresentadas na [tabela 1](#). Como esperado, os indivíduos do grupo obeso/acima do peso apresentavam maiores índices de massa corporal. Em comparação com o grupo de controle, o grupo obeso/acima do peso mostrou maior

Tabela 1 Características demográficas dos participantes do estudo

	Controle n = 153 (%)	Obesidade n = 195 (%)
Sexo feminino	91 (59,47)	104 (53,33)
Idade	11,9 ±3,2	11 ±3,9
IMC	17,9 ±2,3	26,7 ±4,5
PAS	105,3 ±12,4	118,7 ±15,1
PAD	65,2 ±9,7	73,8 ±9,7
Hipertensão	5 (3,2)	61 (31,2)
Glicose (mg/dL)	80,8 ±10,9	86 (±8,8)
HOMA-IR	2,17 ±2,21	5,68 ±3,28
Colesterol total	142 ±43	145 ±35
LDL	60,5 ±34	84,8 ±35
HDL	44 ±9	39 ±10
Triglicerídeos (mg/dL)	74,3 ±27	88,2 ±41

HDL, lipoproteína de alta densidade (mg/dL); HOMA-IR, modelo de avaliação da homeostase – resistência à insulina; IMC, índice de massa corporal (kg/m²); LDL, lipoproteína de baixa densidade (mg/dL); PAS, pressão arterial sistólica (mmHg); PAD, pressão arterial diastólica (mmHg).

Valores apresentados como média ± DP.

Sexo e hipertensão são números de amostras (%).

glicemia de jejum, índice de HOMA-IR, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade e triglicerídeos ($p < 0,01$) (tabela 1).

A tabela 2 apresenta a distribuição de genótipos e alelos nos grupos. Na análise de alelos, o *AKT1* rs10149779 apresentou uma associação sem risco com o alelo ancestral G ($p = 0,2$; RC = 0,70; $X^2 = 4,40$; gl = 1) entre o grupo obeso/acima do peso e o de controle após o teste de 1.000 permutações (teste posterior). O mesmo polimorfismo também não apresentou associação genotípica G/G ($p = 0,09$; RC = 0,61; $X^2 = 6,29$; gl = 2) em comparação a indivíduos eutróficos. O genótipo T/T para o marcador *AKTIP* rs9302648 também não apresentou associação ($p = 0,09$; RC = 1,03; $X^2 = 7,15$; gl = 2) após o teste de 1.000 permutações (teste posterior). Nenhuma associação foi encontrada nos outros marcadores (tabela 2).

Na análise da interação entre genes por meio da redução multifatorial de dimensionalidade, o dendrograma apresenta uma relação entre os pares de genes. O termo sinergia denota uma situação em que a interação baseada em entropia entre dois SNPs gera mais informações que a correlação entre o par. Ao passo que a redundância é usada nos casos em que a interação entre dois SNPs gera menos informações do que a correlação entre os pares (fig. 1).

Quando a análise da resistência à insulina e desses polimorfismos foi concluída, não foi encontrada associação (dados não apresentados).

Embora não tenhamos obtido um valor de p significativo na análise genética do *FTO* rs9939609, quando a análise gênica foi concluída, foi encontrada uma interação entre o *FTO* e o *AKT1* rs10149779.

A tabela 3 apresenta o resultado dos modelos de regressão linear. Não encontramos associação significativa entre cada SNP e o HOMA-RI ou o IMC.

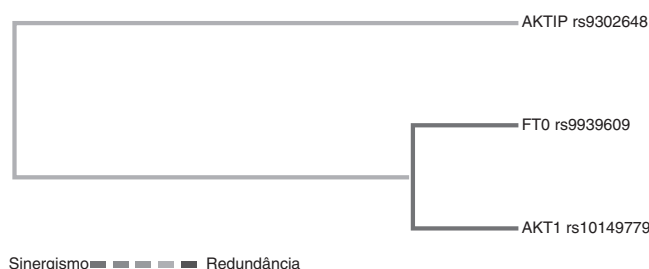


Figura 1 Dendrograma da interação gênica de pacientes obesos e controles. As cores da legenda incluem um espectro que representa a transição do sinergismo (preto) para redundância (cinza). Observe as seguintes interações: sinergismo entre o *FTO* rs9939609 e o *AKT1* rs10149779 e redundância entre estes e *AKTIP* rs9302648.

Discussão

A obesidade é uma doença clínica complexa modulada por muitos fatores genéticos e não genéticos, com diversas interações entre muitos deles. Foram investigados seis SNPs não codificados dos genes *AKT1*, *AKTIP* e *FTO* como possíveis genes da obesidade em crianças brasileiras. Nossos resultados sugerem que os polimorfismos *AKT1*, *FTO* e *AKTIP* não foram associados à obesidade/sobrepeso em crianças brasileiras. Vale observar o fato de que as crianças obesas/acima do peso com o alelo A do *FTO* rs9939609 não apresentaram risco maior de se tornar obesas nessa população. Esse polimorfismo foi associado ao IMC e à diabetes tipo II em diversas populações, como finlandeses e asiáticos.²⁸⁻³⁰ Recentemente, os estudos de associação de todo o genoma em crianças brancas³¹ e chinesas³² reconheceram vários polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs), incluindo o gene *FTO*, associados ao IMC e à obesidade. Embora diversas variações do gene *FTO* tenham sido associadas à obesidade em populações com histórico europeu, seus efeitos em outras etnias ainda devem ser estabelecidos. Em um estudo que envolveu 478 crianças negras, não foi encontrada associação entre as variações do gene *FTO* e o IMC, resultado semelhante a outros estudos com populações negras e gambianas.³³ A mistura étnica brasileira pode ser um motivo para a inexistência de associação com um polimorfismo associado à obesidade clássica.

Poucos estudos com relação a variantes do *FTO* e IMC em crianças e adolescentes latino-americanos foram publicados até agora. Da Silva et al.³⁴ relataram uma associação significativa entre o genótipo A/A do *FTO* rs9939609 e aumento de IMC e gordura subcutânea em 348 crianças brasileiras.³⁵ Curiosamente, em outro estudo a respeito de crianças brasileiras, o alelo *FTO* rs9939609 A foi associado a um aumento de IMC entre crianças com insuficiência de vitamina D, ao passo que nenhum efeito significativo foi encontrado entre aquelas com situação adequada de vitamina D. Esse pode ser um erro do tipo I, mas também pode significar que esse problema é mais complexo do que o esperado e envolveu outros fatores metabólicos.

Até o momento, poucos estudos associaram as variantes no gene *AKT1* e a resistência à insulina. Em um estudo recente, um haplótipo que incluiu o primeiro éxon do *AKT1*

Tabela 2 Genótipo e frequências de alelos dos seis SNPs marcados dos polimorfismos *FTO/AKT1/AKTIP* nas amostras

	Obesidade n = 195 (%)	Controle n = 153 (%)	RC	90% Baixo 95% Alto	χ^2	gl	Valor de p (1.000 permutações)
AKT1							
<i>rs2494738</i>							
G/G	150 (76,92)	126 (82,25)	1 (ref)		1,13	2	0,56
A/G	30 (15,38)	18 (11,76)	1,40	0,73-2,63			
A/A	1 (0,5)	1 (0,65)	0,84	0,05-13,57			
G^a	330 (84,62)	270 (88,24)	1 (ref)		0,83	1	0,36
A	32 (8,2)	20 (6,54)	1,30	0,73-2,34			
<i>rs3730358</i>							
G/G	116 (59,49)	90 (58,82)	1 (ref)		2,31	2	0,31
A/G	54 (27,69)	48 (31,37)	0,87	0,54-1,40			
A/A	11 (5,64)	4 (2,61)	2,13	0,65-6,23			
G^a	286 (73,33)	228 (74,51)	1 (ref)		0,15	1	0,68
A	76 (19,49)	56 (18,3)	1,08	0,73-1,59			
<i>rs10149779</i>							
G/G	94 (48,21)	55 (35,95)	1 (ref)		6,29	2	0,04 (0,09)
G/A	73 (37,44)	76 (49,68)	0,56	0,35 - 0,89			
A/A	18 (9,23)	17 (11,11)	0,61	0,29 -1,30			
G^a	261 (37,83)	186 (60,78)	1 (ref)		4,40	1	0,03 (0,20)
A	109 (27,95)	110 (35,95)	0,70	0,51-0,97			
AKTIP							
<i>rs9302648</i>							
T/T	76 (38,97)	46 (30,07)	1 (ref)		7,15	2	0,02 (0,09)
G/T	76 (38,97)	82 (53,59)	0,56	0,34-0,90			
G/G	36 (18,46)	21 (13,73)	1,03	0,54-1,98			
T^a	228 (58,46)	174 (56,86)	1 (ref)		0,34	1	0,55
G	148 (37,95)	124 (40,52)	0,91	0,66-1,24			
<i>rs7189819</i>							
C/C	67 (34,36)	61 (39,87)	1 (ref)		0,95	2	0,61
C/T	84 (43,08)	65 (42,48)	1,17	0,73-1,89			
T/T	34 (17,44)	23 (15,03)	1,34	0,71-2,53			
C^a	218 (55,9)	187 (61,11)	1 (ref)		1,01	1	0,31
T	152 (38,97)	111 (36,27)	1,17	0,85 -1,60			
FTO							
<i>rs9939609</i>							
A/A	44 (22,56)	34 (22,22)	1 (ref)		4,42	2	0,10
T/A	45 (23,08)	71 (46,41)	1,14	0,66-1,96			
T/T	39 (20,0)	46 (30,07)	0,65	0,35-1,21			
A^a	193 (49,49)	139 (45,42)	1 (ref)		1,88	1	0,16
T	183 (46,92)	163 (53,27)	0,80	0,59-1,09			

gl: grau de liberdade; gl = 1 entre 2 alelos; gl = 2 entre 3 genótipos; RC, razão de chance; uma associação significativa é indicada em **negrito itálico** (< 0,05); valor de p ajustado pelo teste de permutação: 0,2 (alelo); valor de p ajustado pelo teste de permutação: 0,09 (genotípico); valor de p ajustado pelo teste de 1.000 permutações (múltiplo teste – sem fase).

^a Alelo ancestral.

foi associado a maior frequência de síndrome metabólica em indivíduos americanos descendentes de negros e de europeus.³⁶

Quando fizemos a análise gênica (MDR), foi encontrada uma interação entre o *FTO* rs9939609 e o *AKT1* rs10149779. Uma possível razão para essa diferença entre polimorfismo único e os resultados da análise MDR pode ser devido à epistasia, definida como a interação entre dois ou mais genes ou seus produtos proteicos de mRNA, que modulam um fenótipo.³⁷ As análises estatísticas e os modelos animais mostraram que a epistasia é um fenômeno comum na

obesidade. Desse modo, os genes da obesidade conferem, isoladamente, pequenos aumentos nas taxas de risco de obesidade. Contudo, podem influenciar o desenvolvimento da obesidade por mecanismos mais complexos, principalmente interações entre genes e entre gene e o ambiente.³⁸

Como o *FTO* apresentou efeitos maiores sobre o IMC na infância em percentis maiores em alguns estudos, fizemos uma regressão linear.³⁹ Contudo, não foi encontrada associação. Alguns dos achados de associação negativa podem resultar de alguma limitação de nosso estudo, principalmente o tamanho pequeno da amostra total. Ademais,

Tabela 3 Modelo de regressão linear que aborda as contribuições de cada SNP para o HOMA-IR e o IMC em nossa amostra

<i>Modelos de regressão linear do HOMA</i>					
Variável preditora	F	p	R ² ajust.	Beta padrão	t
<i>AKT1</i> rs2191738 HEX/FAM A/G	0,00	0,983	0,00	0,01	0,22
<i>AKT1</i> rs3730358 HEX/FAM A/G	0,12	0,725	0,00	0,02	0,35
<i>AKT1</i> rs10119779 HEX/FAM A/G	0,02	0,880	0,00	0,01	0,15
<i>FTO</i> rs9939309 HEX/FAM A/T	0,00	0,971	0,00	0,00	0,03
<i>AKTIP</i> rs9302318 HEX/FAM G/T	0,65	0,421	0,00	0,05	0,81
<i>AKTIP</i> rs7189819 HEX/FAM C/T	0,33	0,567	0,00	0,04	0,57
<i>Modelos de regressão linear do IMC</i>					
Variável preditora	F	p	R ² ajust.	Beta padrão	t
<i>AKT1</i> rs2191738 HEX/FAM A/G	0,01	0,919	0,00	0,00	0,10
<i>AKT1</i> rs3730358 HEX/FAM A/G	0,06	0,802	0,00	-0,01	-0,25
<i>AKT1</i> rs10119779 HEX/FAM A/G	2,23	0,137	0,00	-0,08	-1,49
<i>FTO</i> rs9939309 HEX/FAM A/T	3,08	0,080	0,01	-0,09	1,75
<i>AKTIP</i> rs9302318 HEX/FAM G/T	0,05	0,816	0,00	0,01	0,23
<i>AKTIP</i> rs7189819 HEX/FAM C/T	1,38	0,240	0,00	-0,06	-1,18

Beta pad., coeficiente de regressão padronizado; HOMA, índice do modelo de avaliação da homeostase; IMC, índice de massa corporal; R² ajust., R² ajustado.

não consideramos fatores ambientais, como os padrões de atividade física, presença de pais acima do peso/obesos, bem como dados relativos à ingestão de alimentos, o que impede uma análise mais detalhada.

A obesidade é uma doença complexa e os mecanismos envolvidos na interação entre genótipo e ambiente ainda precisam ser esclarecidos. Nossos dados podem lançar alguma luz para entender melhor esse problema de saúde complexo e relevante. Deve-se considerar o viés da publicação existente em estudos com abordagem de genes candidatos. Além disso, muitos estudos sobre a genética da obesidade podem apresentar um poder estatístico inadequado, o que aumenta o risco de associações falso positivas.⁴⁰

Em resumo, não encontramos evidência de associação entre polimorfismos *AKT1*, *AKTIP* e *FTO* com a obesidade e a resistência à insulina nesta amostra de crianças brasileiras. São muitos os motivos para os resultados contrastantes observados nos estudos, incluindo diferenças no histórico genético das diferentes amostras. Considerando as associações encontradas em outros estudos, acreditamos que os estudos que envolvem um número maior de pessoas de diferentes grupos étnicos terão elucidar a função desses genes com a obesidade. Dessa forma, nosso trabalho enfatiza a importância do cuidado ao analisar estudos de genes candidatos e reforça a necessidade de estudos bem conduzidos para ampliar nosso entendimento dos fatores genéticos e ambientais envolvidos na obesidade e na resistência à insulina.

Financiamento

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (Capes), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 573646/2008-2) e Fundação

de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig, CBB-APQ-00075-09 e CDS-BPD-00296-14).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado por CAPES, FAPESP, CNPq (FAPEMIG:CBB-APQ-00075-09/CNPq 573646/2008-2), e FAPEMIG:CDS-BPD-00296-14.

Referências

- Danese A, Tan M. Childhood maltreatment and obesity: systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2014;19:544-54.
- Herrera BM, Keildson S, Lindgren CM. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas*. 2011;69:41-9.
- Elks CE, den Hoed M, Zhao JH, Sharp SJ, Wareham NJ, Loos RJ, et al. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:29.
- Sarrafzadegan N, Gharipour M, Sadeghi M, Nouri F, Asgary S, Zarfeshani S. Differences in the prevalence of metabolic syndrome in boys and girls based on various definitions. *ARYA Atheroscler*. 2013;9:70-6.
- Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, et al. The metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2008;29:777-822.
- Field AE, Cook NR, Gillman MW. Weight status in childhood as a predictor of becoming overweight or hypertensive in early adulthood. *Obes Res*. 2005;13:163-9.
- Stratigopoulos G, Padilla SL, LeDuc CA, Watson E, Hattersley AT, McCarthy MI, et al. Regulation of *Fto/Ftm* gene expression in mice and humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294:R1185-96.

8. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, Monda KL, Thorleifsson G, Jackson AU, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet.* 2010;42:937–48.
9. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, Albai G, Strait J, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.* 2007;3:e115.
10. Peeters A, Beckers S, Verrijken A, Roevens P, Peeters P, Van Gaal L, et al. Variants in the FTO gene are associated with common obesity in the Belgian population. *Mol Genet Metab.* 2008;93:481–4.
11. Villalobos-Comparán M, Teresa Flores-Dorantes M, Teresa Villarreal-Molina M, Rodríguez-Cruz M, García-Ulloa AC, Robles L, et al. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16:2296–301.
12. Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC. PI3 K: downstream AKTion blocks apoptosis. *Cell.* 1997;88:435–7.
13. Hemmings BA. Akt signaling: linking membrane events to life and death decisions. *Science.* 1997;275:628–30.
14. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell.* 2007;129:1261–74.
15. Lesche R, Peetz A, van der Hoeven F, Rütger U. Ft1 a novel gene related to ubiquitin-conjugating enzymes, is deleted in the Fused toes mouse mutation. *Mamm Genome.* 1997;8:879–83.
16. Davies RW, Lau P, Naing T, Nikpay M, Doelle H, Harper ME, et al. A 680 kb duplication at the FTO locus in a kindred with obesity and a distinct body fat distribution. *Eur J Hum Genet.* 2013;21:1417–22.
17. Remy I, Michnick SW. Regulation of apoptosis by the Ft1 protein, a new modulator of protein kinase B/Akt. *Mol Cell Biol.* 2004;24:1493–504.
18. Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases (2002: Geneva, Switzerland). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation, Geneva, 28 January–1 February 2002.
19. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Guo SS, Wei R, et al. CDC growth charts: United States. *Adv Data.* 2000;(314):1–27.
20. Update on the 1987 Task Force Report on High Blood Pressure in Children and Adolescents: a working group report from the National High Blood Pressure Education Program. National High Blood Pressure Education Program Working Group on Hypertension Control in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 1996;98:649–58.
21. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 2004;27:1487–95.
22. Souza-Costa DC, Belo VA, Silva PS, Sertorio JT, Metzger IF, Lanna CM, et al. eNOS haplotype associated with hypertension in obese children and adolescents. *Int J Obes (Lond).* 2011;35:387–92.
23. de Miranda JA, Lacchini R, Belo VA, Lanna CM, Sertorio JT, Luiz MR, et al. The effects of endothelial nitric oxide synthase tagSNPs on nitrite levels and risk of hypertension and obesity in children and adolescents. *J Hum Hypertens.* 2015;29:109–14.
24. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19:5444.
25. Dudbridge F. Likelihood-based association analysis for nuclear families and unrelated subjects with missing genotype data. *Hum Hered.* 2008;66:87–98.
26. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005;21:263–5.
27. Motsinger AA, Ritchie MD. Multifactor dimensionality reduction: an analysis strategy for modelling and detecting gene–gene interactions in human genetics and pharmacogenomics studies. *Hum Genomics.* 2006;2:318–28.
28. Cecil JE, Tavendale R, Watt P, Hetherington MM, Palmer CN. An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *N Engl J Med.* 2008;359:2558–66.
29. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science.* 2007;316:1341–5.
30. Wen W, Cho YS, Zheng W, Dorajoo R, Kato N, Qi L, et al. Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians. *Nat Genet.* 2012;44:307–11.
31. Meyre D, Delplanque J, Chèvre JC, Lecoœur C, Lobbens S, Galina S, et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet.* 2009;41:157–9.
32. Wu L, Xi B, Zhang M, Shen Y, Zhao X, Cheng H, et al. Associations of six single nucleotide polymorphisms in obesity-related genes with BMI and risk of obesity in Chinese children. *Diabetes.* 2010;59:3085–9.
33. Grant SF, Li M, Bradfield JP, Kim CE, Annaiah K, Santa E, et al. Association analysis of the FTO gene with obesity in children of Caucasian and African ancestry reveals a common tagging SNP. *PLoS ONE.* 2008;3:e1746.
34. da Silva CF, Zandoná MR, Vitolo MR, Campagnolo PD, 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;14:34.
35. Lourenço BH, Qi L, Willett WC, Cardoso MA. ACTION Study Team. FTO genotype, vitamin D status, and weight gain during childhood. *Diabetes.* 2014;63:808–14.
36. Devaney JM, Gordish-Dressman H, Harmon BT, Bradbury MK, Devaney SA, Harris TB, et al. AKT1 polymorphisms are associated with risk for metabolic syndrome. *Hum Genet.* 2011;129:129–39.
37. Carlborg O, Haley CS. Epistasis: too often neglected in complex trait studies? *Nat Rev Genet.* 2004;5:618–25.
38. Warden CH, Yi N, Fislser J. Epistasis among genes is a universal phenomenon in obesity: evidence from rodent models. *Nutrition.* 2004;20:74–7.
39. Mitchell JA, Hakonarson H, Rebbeck TR, Grant SF. Obesity-susceptibility loci and the tails of the pediatric BMI distribution. *Obesity (Silver Spring).* 2013;21:1256–60.
40. Hardman CA, Rogers PJ, Timpson NJ, Munafò MR. Lack of association between DRD2 and OPRM1 genotypes and adiposity. *Int J Obes (Lond).* 2014;38:730–6.