



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

IARA ALMEIDA PINTO

**POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE *TCF7L2* E
SUA ASSOCIAÇÃO COM ALTERAÇÕES DA
HOMEOSTASE DA GLICOSE EM CRIANÇAS DA
GRANDE VITÓRIA**

VITÓRIA, ES

2018

IARA ALMEIDA PINTO

**POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE *TCF7L2* E SUA
ASSOCIAÇÃO COM ALTERAÇÕES DA HOMEOSTASE DA
GLICOSE EM CRIANÇAS DA GRANDE VITÓRIA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Flávia Imbroisi Valle Errera.

VITÓRIA, ES

2018

IARA ALMEIDA PINTO

**POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE *TCF7L2* E SUA
ASSOCIAÇÃO COM ALTERAÇÕES DA HOMEOSTASE DA
GLICOSE EM CRIANÇAS DA GRANDE VITÓRIA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Apresentada em 30 de agosto de 2018.

Prof. Dr.

Instituição

**Orientador(a) Prof^a Dra. Flávia
Imbroisi Valle Errera.**

UFES

VITÓRIA, ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do
Espírito Santo, ES, Brasil)

P659p Pinto, Iara Almeida, 1992 -
Polimorfismo rs7903146 do gene *TCF7L2* e sua associação com
alterações da homeostase da glicose em crianças da Grande Vitória / Iara
Almeida Pinto – 2018.
53 f. : il.

Orientador: Flávia Imbroisi Valle Errera.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Obesidade. 2. Criança. 3. Polimorfismo Genético. 4. Ganho de Peso.
I. Errera, Flávia Imbroisi Valle. II. Universidade Federal do Espírito Santo.
Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo amor e por estar sempre ao meu lado me guiando e direcionando meus passos.

À Profa Dra. Flávia Imbroisi Valle Errera, por confiar em mim, mesmo diante de todas as dificuldades enfrentadas no decorrer desta pós-graduação.

Aos meus pais pelo amor incondicional, compreensão, apoio e educação durante todo o meu percurso na Universidade e fora dela. A minha família, especialmente minha Tia Tela, minha irmã Arlete e Wenderson Gregório, por sempre acreditarem em mim e me confortarem nos momentos de aflição, que não foram poucos.

Obrigada Tiló e Poli (*in memoriam*) por não duvidarem de mim, até mesmo quando eu duvidei.

Agradeço aos colegas do Laboratório de Genética Humana e Molecular, Centro de Pesquisa ICALP, EMESCAM: Larissa Silva Zane, Agatha Oliveira Faria, Josivany Valério, Marcela de Paulo e todos que passaram pelo laboratório neste período, pela amizade, brincadeiras, pelos conselhos, pela ajuda imprescindível para a realização deste trabalho e pelos conhecimentos compartilhados.

Aos funcionários do Centro de Pesquisa ICALP, EMESCAM, em especial Luciana e Luís Antônio por sempre estarem solícitos e com uma palavra amiga.

Aos mestres e a todos os funcionários e colegas do Núcleo de Biotecnologia – UFES.

À Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia (EMESCAM), pela disponibilização do espaço, e por permitir o contato com tantos profissionais que só fizeram acrescentar na construção do meu conhecimento.

Às agências de apoio e financiamento: CAPES e ao CNPq.

“Façam tudo com amor”. (1 Coríntios 16:14)

RESUMO

PINTO, I.A. **Polimorfismo rs7903146 do gene *TCF7L2* e sua associação com alterações da homeostase da glicose em crianças da Grande Vitória.** 2018. 53f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

Jovens com excesso de peso são mais propícios a se tornarem obesos e diabéticos. O *TCF7L2* é o principal gene associado ao DM2. Há evidências recentes sugerindo que genes que alterem a homeostase da glicose são bons candidatos a influenciarem o peso corporal e vice-versa. Polimorfismos nesse gene estão diretamente relacionados ao desenvolvimento de DM2 e possivelmente ao peso corporal. Por essa razão, foram obtidas frequências dos genótipos para o polimorfismo rs7903146 no gene *TCF7L2* em adolescentes e verificado se algum genótipo e/ou modelo genético estava associado a parâmetros da homeostase da glicose e excesso de peso. Adolescentes matriculados em escolas públicas estaduais da região metropolitana de Vitória-es, provenientes de uma amostra representativa foram incluídos aleatoriamente no estudo genético. As avaliações antropométricas e coleta de sangue, após jejum de 12 horas, foram realizadas na própria escola. Para classificação do estado nutricional foi considerado o índice de massa corpórea/idade (imc/i), em escore z. o DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico. Para o gene *TCF7L2*, o DNA foi amplificado por reação em cadeia da polimerase alelo-específica e os produtos desta reação foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida (12%), visualizados pela coloração em nitrato de prata a 0,1%. A análise estatística foi realizada no *software* spss versão 23.0. Dados dos indivíduos relativos à raça, sexo, idade, imc/i, glicemia e HOMA-ir, HOMA-b% e HOMA -s% foram analisados. Foram investigados 312 adolescentes (idade: 10-14 anos) divididos em grupo sem excesso de peso (n=223) e com excesso de peso (n = 89). Também foram analisadas as frequências para os modelos genéticos dominante (TT+CT x CC) e recessivo (CC+CT x TT), porém apenas para o modelo dominante foi verificada uma associação marginal ($p= 0,090$) com imc/i. Os níveis de HOMA - β % foram

associados aos genótipos no grupo com excesso de peso, sendo encontrados valores menores em crianças com genótipo CT ou TT ($p= 0,034$) também observado no modelo dominante (CT+TT $p= 0,013$). Os resultados sugerem que a associação com HOMA- β possa ser preditor de falha precoce na secreção de insulina e possivelmente dependente do IMC.

Palavras-chave: TCFL2. SNP. Crianças. Homeostase Glicêmica. Obesidade.

ABSTRACT

PINTO, I.A. **Polymorphism rs7903146 of the *TCF7L2* gene and its association with changes in glucose homeostasis in children of the Grande Vitória.** 2018. 53f. Dissertation (Master in Biotechnology) - Postgraduate Biotechnological Programme, UFES, Espírito Santo. Brazil.

Overweight young people are more likely to become obese and diabetic. There is recent evidence suggesting that genes that alter glucose homeostasis are good candidates for influencing body weight the opposite is true. *TCF7L2* is the main gene associated with DM2. Polymorphisms in this gene are directly related to the development of DM2 and possibly to body weight. For this reason, genotype frequencies were obtained for the rs7903146 polymorphism in the *TCF7L2* gene in adolescents and it was verified if any genotype and / or genetic model was associated with parameters of glucose homeostasis and overweight. Adolescents enrolled in state public schools in the metropolitan region of Vitória-ES, from a representative sample were randomly included in the genetic study. The anthropometric evaluations and blood collection, after a 12-hour fast, were performed at the school itself. For classification of nutritional status, the body mass index / age (imc / i) index was considered in z score. The genomic DNA was extracted from peripheral blood samples. For the *TCF7L2* gene, the DNA was amplified by allele-specific polymerase chain reaction and the products of this reaction were analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis (12%), visualized by staining in 0.1% silver nitrate. Statistical analysis was performed in software spss version 23.0. Data from individuals regarding race, sex, age, imc / i, glycemia and HOMA-ir, HOMA-b% and HOMA -s% were analyzed. 312 adolescents (age: 10-14 years) divided into non-overweight (n = 223) and overweight (n = 89) groups were investigated. The frequencies for the dominant (TT + CT x CC) and recessive (CC + CT x TT) genetic models were also analyzed, but only a marginal association (p = 0.090) with imc / i was found for the dominant model. HOMA - β % levels were associated with genotypes in the overweight group, with lower values found in children with a CT or TT genotype (p = 0.034) also observed in the dominant model (CT + TT p = 0.013). The results suggest that the association with HOMA- β may be a predictor of early failure in insulin secretion and possibly dependent on BMI.

Keywords: TCFL2. SNP. Children. Glucose Homeostasis. Obesity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC) e risco de doença que divide a adiposidade em graus ou classes. Fonte: OMS, 2000.	18
Tabela 2 Classificação da Organização Mundial da Saúde das condições de nutrição em crianças e adolescentes baseada no IMC para idade (Escore z do IMC). Fonte: ABESO, 2016 (adaptado).....	19
Tabela 3 Primers para a genotipagem C / T de rs7903146 por PCR alelo-específico.	31
Tabela 4 Estatística descritiva da idade, IMC e parâmetros do metabolismo da glicose em 312 crianças com e sem excesso de peso.....	33
Tabela 5 Distribuição genotípica nos parâmetros de metabolismo da glicose e testes de associação com genótipos rs7903146 em TCF7L2.	35
Tabela 6 Características de HOMA-IR, HOMA-β% e HOMA-S% entre os genótipos e modelos de herança.	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos graxos livres
DIN	Dosagem de insulina
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês deoxyribonucleic acid)
GLP-1	Glucagon-like peptide 1
GWAS	Genome wide association study
HA	Hipertensão arterial
<i>HNF1A</i>	Hepatocyte nuclear factor 1 homeobox A
<i>HNF1B</i>	Hepatocyte nuclear factor 1 homeobox B
HOMA-β%	Homeostasis Model Assessment- β cell function
HOMA – IR	Homeostasis Model Assessment - insulin resistance
HOMA – S%	Homeostasis Model Assessment - insulin sensitivity
IBGE	Instituto brasileiro de geografia e estatística
IDF	International Diabetes Federation □
IMC	Índice de massa corporal
IMC-z	Índice de massa corporal em escore z

KCNJ11	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 11)
Kg/m ²	Quilogramas dividido por metros elevado ao quadrado
LADA	Diabetes Latente Autoimune do Adulto
LRP	Leucine-responsive regulatory protein
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês Polymerase Chain Reaction)
PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma
RI	Resistência à insulina
RMGV	Região Metropolitana da Grande Vitória
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SM	Síndrome metabólica
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês Single nucleotide polymorphisms)
TCF-1	Fator de transcrição 1 (do inglês transcription factor 1)

<i>TCF-2</i>	Fator de transcrição 2 (do inglês transcription factor 2)
<i>TCF-4</i>	Fator de transcrição 4 (do inglês transcription factor 4)
<i>TCF7L2</i>	Transcription factor 7 like-2
UCPs	Proteínas desacopladoras
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial (do inglês Vascular Endothelial Growth Factor)
Wnt	Wingless type

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	OBESIDADE NO BRASIL E NO MUNDO	13
1.1.1	Obesidade Infantil.....	14
1.2	RESISTÊNCIA A INSULINA	17
1.3	FISIOPATOLOGIA DO DIABETES	18
1.4	GENÉTICA DO DIABETES TIPO 2.....	19
1.5	<i>TCF7L2</i> E MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS NO DIABETES TIPO 2	21
2	OBJETIVOS.....	26
2.1	OBJETIVO GERAL.....	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3	MÉTODOS.....	27
3.1	AMOSTRA E DADOS CLÍNICOS	27
3.1.1	População de Crianças e Adolescentes da Região Metropolitana de Vitória.....	27
3.2	GENOTIPAGEM DO POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE <i>TCF7L2</i>	28
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
4	RESULTADOS	31
4.1	GENOTIPAGEM DO POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE <i>TCF7L2</i>	31
4.2	TESTE DE ASSOCIAÇÃO	31
5	DISCUSSÃO.....	35
6	CONCLUSÕES.....	40
7	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE NO BRASIL E NO MUNDO

A obesidade, caracterizada por um índice de massa corporal (IMC) $\geq 30 \text{ kg / m}^2$, é uma epidemia global com graves complicações de saúde. É uma condição médica crônica em que o aumento do crescimento do tecido adiposo prejudica a saúde metabólica e isoladamente aumenta a mortalidade e tanto ela como o excesso de peso predis põem a doenças ainda mais graves, tais como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão arterial (HA), dislipidemias, resistência à insulina (RI) problemas ortopédicos, vários tipos de câncer, infarto do miocárdio, entre outras (ADYA et al, 2015; KOSTOVSKI et al, 2018; ABESO, 2018).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, em 2005, havia aproximadamente 1,6 bilhões de adultos com sobrepeso e pelo menos 400 milhões de adultos eram obesos em todo o mundo. Em 2015, cerca de 2,3 bilhões de adultos tinham sobrepeso e mais de 700 milhões com obesidade (BAHIA e ARAÚJO, 2014). Com sua prevalência aumentando significativamente nos últimos anos, as previsões indicam que, até 58% dos adultos em todo o mundo estarão acima do peso ou obesos até 2030 (BALSAN et al, 2015).

Os Estados Unidos se destacam pela elevada e crescente prevalência de sobrepeso e obesidade. Segundo um estudo conduzido em 2009 e 2010, a prevalência de obesidade na população adulta foi de cerca de 35%, em ambos os sexos (FLEGAL et al, 2012). A população obesa no Brasil passou de 11,8% em 2006 para 18,9% em 2016, um crescimento de 60% em 10 anos. O excesso de peso (IMC entre 25 e 30) é ainda mais preocupante, os brasileiros acima do peso passaram de 42,6% em 2006 para 53,8% em 2016. Outro dado que chama a atenção é o de que 17% dos adultos jovens (25 e 44 anos de idade) estão obesos (ABESO, 2018). O aumento da obesidade é o responsável pelo aumento da prevalência de DM2 e HA. O diagnóstico de DM2 passou de

5,5% em 2006 para 8,9% em 2016 e o de HA foi de 22,5% em 2006 para 25,7% em 2016 (BRASIL, 2017).

1.1.1 Obesidade Infantil

A obesidade é tipicamente definida como tendo um excesso de peso corporal causado por desequilíbrio crônico de calorias, mais calorias sendo consumidas do que gastas. O IMC - z, é uma medida usada para classificar crianças com sobrepeso ou obesidade. Um escore z é computado usando o peso e a altura da criança e a pontuação é então comparada a uma idade e sexo baseados em normas percentis para determinar o status do peso (PULGARON, DELAMATER, 2014).

Em todo o mundo, aproximadamente 43 milhões de crianças em idade pré-escolar estão com sobrepeso e obesidade, e 92 milhões são considerados risco para excesso de peso (PULGARON, DELAMATER, 2014).

Estudos clínicos indicam que quase 50% das crianças que são obesas apresentam pré-hipertensão ou hipertensão grau I e II, outros 29% têm dislipidemia, 44% têm mais do que 5% de gordura no fígado, e 74% exibem mais do que 5% de gordura nos seus músculos, e 17% apresentam alterações no metabolismo da glicose incluindo tolerância à glicose diminuída e síndrome metabólica (HOLM et al, 2014; HAGMAN et al, 2014). Além disso, as crianças que são obesas correm o risco de doenças cardiovasculares, endócrinas, ósseo-articulares, problemas psicológicos, apneia do sono, problemas dentários e complicações que estão presentes ou ainda não clinicamente aparentes (HOLM et al, 2014). Jovens que não conhecem orientações de comportamento alimentar, atividade física e comportamento sedentário tem maior resistência insulínica do que os que conhecem (PULGARON, DELAMATER, 2014).

Em adultos, o padrão internacional para diagnóstico da obesidade é o IMC (Tabela 1). Em crianças e adolescentes, a classificação de sobrepeso e obesidade, segundo o IMC, é mais arbitrária, não se correlacionando com morbidade e mortalidade da forma como se define obesidade em adultos.

Tabela 1. Classificação internacional da obesidade segundo o índice de massa corporal (IMC) e risco de doença que divide a adiposidade em graus ou classes. Fonte: OMS, 2000.

IMC (Kg/m²)	CLASSIFICAÇÃO	OBESIDADE GRAU/CLASSE	RISCO DE DOENÇA
<18,5	Magro ou baixo peso	0	Normal ou elevado
18,5-24,9	Normal ou eutrófico	0	Normal
25-29,9	Sobrepeso ou pré-obeso	0	Pouco elevado
30-34,4	Obesidade	I	Elevado
30-39,9	Obesidade	II	Muito elevado
≥40,0	Obesidade grave	III	Muitíssimo elevado

O índice de massa corporal associa-se, de modo significativo, à adiposidade. Em razão da variação do corpo durante o crescimento, a interpretação difere de acordo com o sexo e a faixa etária. O limite de normalidade é estabelecido por curvas de IMC específicos para idade e sexo, sendo classificadas como sobrepeso e obesidade, respectivamente quando maior ou igual a +1 e +2 escores IMC - z após os 5 anos de idade (Tabela 2). O Brasil adota as curvas de IMC da OMS, disponíveis para meninas de 0 a 5 anos, de 5 a 19 anos, e também para meninos do nascimento até 5 anos e de 5 a 19 anos (ABESO, 2018).

A distribuição da gordura corporal segue uma influência genética. A medida da circunferência abdominal é o melhor parâmetro para diagnosticar obesidade central e para relacionar-se com risco metabólico. As crianças obesas apresentam correlação positiva para gordura abdominal e alterações metabólicas do tipo hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperglicemia e hiperinsulinemia.

Tabela 2. Classificação da Organização Mundial da Saúde das condições de nutrição em crianças e adolescentes baseada no IMC para idade (Escore z do IMC). Fonte: ABESO, 2018 (adaptado).

CLASSIFICAÇÃO	IMC-z
Magreza grave	< -3
Magro/Desnutrido	< -2
Eutrófico	≥ -2 e $< +1$
Sobrepeso	$\geq +1$ (equivalente ao IMC 25kg/m ² aos 19 anos) e $\leq +2$
Obesidade	$\geq +2$ (equivalente ao IMC 30kg/m ² aos 19 anos) e $\leq +3$
Obesidade grave	$> +3$

IMC-z: escore-z do IMC - posição relativa do IMC da criança, entre crianças da mesma idade e sexo.

Poucos estudos prospectivos estão disponíveis para ajudar a esclarecer a obesidade (PATE et al, 2013). A condição de excesso de peso na infância foi associado ao excesso de peso dos pais (THIBAULT et al, 2010) e dos avós (POLLEY et al, 2005). Crianças nascidas de mães com sobrepeso ou obesas têm maior probabilidade de estarem acima do peso aos quatro anos idade, mesmo que o seu IMC esteja dentro do intervalo médio aos dois anos de idade (KITSANTAS, GAFFNEY, 2010). Um estudo longitudinal em meninas indicou que, em comparação com as famílias em que nenhum dos pais tinha excesso de peso, se ambos os pais de uma menina

estavam com sobrepeso a menina tinha oito vezes mais probabilidade a ter excesso de peso aos 13 anos, mesmo depois de controlar o IMC das meninas aos cinco anos de idade (FRANCIS et al, 2007).

Na DM2, a hiperglicemia é consequência da resistência à insulina e da disfunção das células beta. A resistência periférica à insulina ocorre precocemente no curso da doença e, inicialmente, é compensada por hiperinsulinemia. No entanto, a hiperglicemia resulta ao longo do tempo diminuição da secreção de insulina. O DM2 tem uma etiologia multifatorial, incluindo genética, obesidade fisiológica e relacionada ao estilo de vida, com ingestão dietética hipercalórica, baixas taxas de atividade física e aumento do comportamento sedentário. DM2 na juventude é caracterizado por ter resistência à insulina, e outras características da síndrome metabólica estão comumente presentes, incluindo hipertensão, hiperlipidemia, doença hepática gordurosa (PULGARON, DELAMATER, 2014).

1.2 RESISTÊNCIA A INSULINA

Uma das complicações mais preocupantes da obesidade é a resistência insulínica (RI), considerada precursora da síndrome metabólica (SM) (ROMUALDO et al, 2014). Diversas mutações monogênicas foram descritas como causadoras de RI, interferindo nas diferentes etapas da ação insulínica, na viabilidade das ilhotas pancreáticas, na proliferação e diferenciação adipocitária (GIACAGLIA, 2018; DASÍLIO, 2013).

Recentemente, o tecido adiposo marrom vem sendo implicado na proteção contra a obesidade e SM, pela maior concentração de mitocôndrias e maior expressão das proteínas desacopladoras (UCPs), determinando maior gasto metabólico. Além da ativação pelo frio, outros mecanismos que aumentam a proporção de adipócitos marrons foram identificados, como o fator de crescimento endotelial (VEGF), peptídeos natriuréticos, e uma proteína

derivada do músculo, e estimulada pelo exercício físico, denominada irisina (GIACAGLIA, 2018; DASÍLIO, 2013).

Além disso, sendo a insulina um hormônio anabolizante, a presença de RI induz um estado catabólico e isto pode ser notado pela maior perda de tecido muscular esquelético, que é justamente o principal tecido de atuação da insulina e maior consumidor de ácidos graxos livres (AGL) e glicose de nosso organismo. O próprio fator etário também contribui para agravar esta sarcopenia (GIACAGLIA, 2018).

O padrão-ouro na caracterização laboratorial de RI é o método do clamp euglicêmico hiperinsulinêmico. O Modelo de Avaliação da Homeostase (HOMA) estima a função das células beta (B%) no estado estacionário e a sensibilidade à insulina (S%), de uma população de referência normal. Estas medidas correspondem bem, mas não são necessariamente equivalentes, a estimativas não estacionárias da função das células beta e sensibilidade à insulina derivadas de modelos estimulatórios como o clamp hiperinsulinêmico, o clamp hiperglicêmico, o teste de tolerância à glicose intravenosa e teste de tolerância oral à glicose. Sendo HOMA-IR (resistência à insulina), o inverso de S% ($100/S\%$). Na prática clínica, o HOMA-IR é utilizado por ser menos trabalhoso, dispendioso, menos invasivo, e com excelente correlação com o clamp. Considera-se como valor normal um HOMA-IR de até 2,8. Embora muitas referências correlacionem o HOMA-IR com o índice de massa corporal (IMC), não podemos imaginar que a hiperinsulinemia do obeso, com consequente elevação do HOMA-IR, seja um fenômeno normal e “fisiológico”, pelo contrário, indicam que já está presente uma sobrecarga beta-pancreática (MATTHEWS, 2001; GELONEZE & TAMBASCIA, 2006; KURTOGLU et al, 2010).

1.3 FISIOPATOLOGIA DO DIABETES

Diabetes é, segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), uma doença crônica na qual o corpo não produz insulina ou não consegue empregar adequadamente a insulina que produz. O tipo 1 é causado por destruição progressiva das células- β das ilhotas pancreáticas, o que leva à insulinopenia e à hiperglicemia (RODAKI et al, 2008). Entre o Tipo 1 e o Tipo 2, foi identificado ainda o Diabetes Latente Autoimune do Adulto (LADA). Algumas pessoas que são diagnosticadas com o Tipo 2 desenvolvem um processo autoimune e acabam perdendo células betas do pâncreas. E há também o diabetes gestacional, uma condição temporária que acontece durante a gravidez (SBD, 2018).

Cerca de 90% das pessoas com diabetes têm o Tipo 2. Ele se manifesta mais frequentemente em adultos, mas crianças também podem apresentar. Apesar de a hiperglicemia ser a mais marcante característica do diabetes, especialmente no tipo 2, pode-se dizer que ela reflete a quebra na homeostase entre duas propriedades: capacidade relativa de secreção de insulina pela célula β pancreática e grau de resistência à ação da insulina em tecido hepático e muscular; a insulina, peptídeo secretado pela célula β pancreática em resposta à elevação glicêmica no plasma, aumenta a captação de glicose pelos tecidos periféricos e suprime a produção e liberação hepática de glicose. Dessa forma, ocorrem habitualmente picos e vales alternantes nos níveis de insulina e glucagon que ocorrem para manter a homeostase glicêmica. A homeostase, ou tolerância glicêmica, depende de três ações altamente coordenadas para ser mantida: estímulo à secreção insulínica; supressão da produção hepática de glicose, mediada pela insulina; captação da glicose por tecidos periféricos, também mediada pela presença e ação da insulina (SBD, 2018).

1.4 GENÉTICA DO DIABETES TIPO 2

É de conhecimento comum que a obesidade está associada ao risco de desenvolvimento do DM2. Embora, há muito, seja observado clinicamente que o diabetes sofre importante influência de fatores ambientais, especialmente a

dieta, também é observado, há décadas, que existe forte influência genética na sua determinação. A presença de diabetes do tipo 2 em um parente de primeiro grau aumenta o risco de diabetes em 2 a 4 vezes. Filhos de pai e mãe diabéticos têm 80% de risco de se tornarem diabéticos ao longo da vida (NIH, 201 KENNY et al, 1995; PIERCE et al, 1995). Outra evidência da influência da genética na patogênese do diabetes é a grande diferença de incidência e prevalência em populações etnicamente diversas. Apesar de ser considerado a influência genética na determinação do diabetes tipo 2, observa-se que, mesmo em populações de alto risco genético para a doença, há fatores ambientais que exercem enorme impacto e papel definitivo nessa equação. No entanto, mesmo com a clara influência genética de determinantes do diabetes tipo 2, a busca pelo isolamento desses fatores ainda está em andamento. Isso é típico de doenças complexas, nas quais apesar de um indivíduo carregar múltiplos fatores de risco genéticos que o predisponham à doença, pode ser necessária a associação a fatores ambientais para que o processo patogênico seja iniciado (TAYLOR, 2006).

A procura por genes candidatos por muito tempo foi focada em genes codificadores de proteínas possivelmente envolvidas na fisiopatologia do diabetes tipo 2, como desenvolvimento pancreático, síntese, secreção ou ação da insulina (KOO et al, 2007). Até 2006, somente variantes nos genes *KCNJ11* (*potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 11*) e *PPARG* (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*) haviam sido relacionados de forma consistente com o diabetes do tipo 2. O gene *KCNJ11* codifica o *inwardly rectifying potassium channel* (KIR6.2), subunidade do canal de potássio ATP-dependente na célula beta pancreática. Mutações ativadoras desse gene levam a uma forma grave e precoce de diabetes chamado diabetes permanente neonatal, por insuficiência de secreção insulínica que tende a responder a tratamento com sulfoniluréias, drogas que agem bloqueando o canal de potássio e permitindo a despolarização celular e secreção insulínica, enquanto que mutações inativadoras do gene são associados com hipoglicemia hiperinsulinêmica também neonatal (BOULÉ et al, 2001). Já o gene *PPARG* codifica um membro da família dos receptores nucleares ativados

por proliferadores de peroxissomos, que modulam a expressão gênica de diversos outros fatores proliferativos e metabólicos, além de serem alvo das drogas pertencentes à classe das tiazolidinedionas. Carreadores dos alelos de risco do polimorfismo Pro12Ala desse gene apresentam importante resistência à insulina em fígado, músculo e gordura, aumentando o risco de diabetes na população, dessa forma.

Muitos estudos demonstraram que o DM2 aumentou dramaticamente em crianças e adolescentes em todo o mundo nos últimos anos. Os resultados dos estudos epidemiológicos mostraram que a incidência de diabetes tipo 2 em crianças e adolescentes tem um intervalo de 1-51/1000, dependendo do grupo étnico (PULGARON, DELAMATER, 2014).

1.5 *TCF7L2* E MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS NO DIABETES TIPO 2

Um dos genes mais estudados associado ao DM2 é o *TCF7L2* (*transcription factor 7-like 2*) antigamente referido como *TCF-4* (*transcription factor 4*). Localizado no braço longo (q) do cromossomo 10, na posição 25.3 (10q25.3) (figura 1) (Gene Cards, 2018), com forte associação com DM2 e diminuição de secreção de insulina, é membro de uma família de fatores de transcrição na qual se encontram outros genes, não-homólogos, TCF-1 e TCF-2, também chamados, respectivamente, de HNF1A e HNF1B (*hepatocyte nuclear factor 1 homeobox A e B*), responsáveis por quadros de diabetes monogênico (MODY, ou *Maturity-Onset Diabetes of the Young*) (YANG et al, 2012; CHIEN et al, 2007).



Figura 1: localização do *TCF7L2* (Gene cards)

O *TCF7L2* é amplamente expresso e intimamente envolvido com a cascata de sinalização Wnt, cujo termo advém da combinação de *Wg* (*wingless*) e *INT*,

genes que codificam proteínas de integração. O gene *wingless* foi originalmente identificado em estudos de embriogênese em *Drosophila*. A tradução da via Wnt é uma das vias centrais que controlam o crescimento e diferenciação dos organismos (WANG et al, 2015; VAN DER KROEF et al. 2016). Em um dos principais ramos da via Wnt, chamado via canônica, Wnts se ligam a receptores frizzled em conjunto com correceptores da família LRP (*Leucine-responsive Regulatory Protein*). A ativação resultante da via previne a fosforilação da β -catenina e sua degradação subsequente. A β -catenina estabilizada transloca-se para dentro do núcleo onde ela interage com fatores de transcrição da família TCF para ativar a expressão de genes-alvo do *TCF7L2*. Em conclusão, acredita-se que a regulação controlada desse mecanismo de sinalização leva a proliferação e diferenciação normais em tecidos-chave para a patogênese do diabetes tipo 2, como o adiposo e, possivelmente, o pâncreas endócrino (FLOREZ, 2007; WELTERS E KULKARNI, 2008; KAMINSKA; PIHLAJAMAKI, 2013).

Dentre os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) do gene *TCF7L2* associados ao risco de DM2 estão rs7903146, rs7901695, rs12255372, rs11196205 rs7895340 e rs4506565 (PENG et al, 2013). O SNP rs7903146, localizado no íntron 3 do *TCF7L2*, consiste de uma transição de C (citosina) para T (timina) (HSIAO; LIN, 2016). O alelo de risco T está associado com uma redução do funcionamento das células β , aumento da glicose em jejum e diabetes tipo 2 (FREATHY et al., 2007, 2010). Atualmente, o SNP rs7903146 C> T é o *locus* mais fortemente associado ao risco de DM2 em nível populacional (ASSMANN et al, 2014; TONG et al, 2009; CAUCHI et al, 2006; MARQUEZINE et al, 2008; HELGASON et al, 2007).

Florez et al. (2006) demonstraram que pacientes com o genótipo TT do SNP rs7903146 eram mais propícios a progredirem para diabetes, comparados aos com genótipo CC. Os portadores do alelo T em rs7903146 apresentavam níveis significativamente mais baixos de secreção de insulina do que os homozigotos CC. Uma meta-análise sobre o gene *TCF7L2*, corroborou a significância do alelo T rs7903146 e o DM2. (CAUCHI et al, 2006).

Foi demonstrado que pessoas homozigotas para as variantes que predis põem ao diabetes apresentam quadro de intolerância à glicose administrada por via oral, mas não intravenosa, o qual sugere a presença de um defeito no eixo enteroinsular, dependente de incretinas, entre as quais uma das principais é o *glucagon-like peptide 1* (GLP-1). O eixo enteroinsular é a rede de comunicação neural e endócrina entre intestino delgado e pâncreas que potencializa a liberação de insulina em resposta à alimentação. Há relatos de que a heterodimerização do *TCF7L2* com a β -catenina poderia modular a produção de proglucagon intestinal, um dos precursores do GLP-1 (YI et al, 2005).

Também há dados que demonstram outras características metabólicas importantes em portadores do alelo T de risco para o polimorfismo rs7903146, como reduzida capacidade de secreção insulínica pela célula β pancreática, reduzido efeito incretina e aumento na taxa de gliconeogênese hepática, especialmente nos homozigotos para o alelo de risco. A expressão do *TCF7L2* em ilhotas humanas foi 5 vezes maior em diabéticos, particularmente nos homozigotos para o alelo T, o que foi associado à redução da secreção de insulina estimulada por glicose nessas células, reforçando o envolvimento do gene na patogênese do diabetes (LYSSENKO et al, 2007).

A idade média de início do DM2 em jovens é de 13 anos de idade (ROSENBLOOM et al, 2008; ADA, 2000). Antes de meados dos anos 90, poucas crianças com diabetes (cerca de 1-2%) foram classificadas como portadoras de DM2 (PULGARON, DELAMATER, 2014).

No entanto, como a obesidade tem crescido nos últimos anos, a incidência de diabetes de todos os jovens diagnosticados aumentou 25-45%. Em estudos publicados no final da década de 1990 nos Estados Unidos, os jovens diagnosticados com DM2 aumentaram drasticamente, representando 33-45% de todos os novos casos de diabetes, com a maioria deles sendo obesa, minoria étnica e tendo uma história familiar positiva de DM2. Do mesmo modo, os casos de DM2 entre os jovens no Reino Unido e na Índia aumentaram rapidamente nos últimos anos (PULGARON, DELAMATER, 2014).

A comorbidade mais comum do DM2 na juventude é a obesidade (ROSENBLOOM et al, 2008; ADA, 2000). Existe uma forte relação entre as taxas crescentes de obesidade observadas nas últimas décadas com o aumento da incidência de diabetes tipo 2 em crianças e adolescentes (PULGARON, DELAMATER, 2014). Estudos indicam que mais de 85% das crianças com diabetes tipo 2 têm excesso de peso ou são obesas no momento do diagnóstico (ROSENBLOOM et al, 2007; ADA, 2000).

O controle glicêmico começa a se deteriorar dentro de dois anos após o diagnóstico. O prognóstico a longo prazo de jovens com DM2 não é conhecido atualmente, mas estima-se que esses jovens podem ter uma perda de até 15 anos de expectativa de vida e um risco aumentado de complicações graves de saúde no momento em que atingem os 40 anos, dependendo do nível de controle glicêmico (PULGARON, DELAMATER, 2014).

É inquestionável a necessidade de programas para prevenção de doenças associadas à obesidade, considerando que esta prejudica a saúde metabólica e isoladamente aumenta a mortalidade. É possível que certos polimorfismos estejam associados a diferentes respostas a mudanças no estilo de vida.

Evidências sugerem que TCF7L2 é o principal regulador da produção e processamento de insulina nas ilhotas pancreáticas. Tem um papel central na coordenação da expressão e subsequente processamento de pró-insulina para formação de insulina madura através de diversos genes alvo do TCF7L2 e vias regulatórias (LIN et al., 2016; ZHOU et al., 2014). Além disso, tem uma grande influência no funcionamento das células β e na secreção da insulina (YAGHOOTKAR; FREATHY, 2012).

O alelo de risco T está associado a uma redução do funcionamento das células β , aumento da glicose em jejum e diabetes tipo 2 (FREATHY et al., 2007, 2010). Como o visto por Dabelea et al (2011), os jovens podem ter frequências mais altas do alelo de risco do que os observados em casos de adultos. Jovens com excesso de peso tem mais riscos de se tornarem jovens obesos. A relação gene-resposta é relevante para compreender os mecanismos de regulação do peso corporal que podem auxiliar no desenvolvimento de programas de

prevenção de DM2. Genes envolvidos na regulação da adiposidade corporal e metabolismo da glicose podem potencialmente influenciar a resposta a intervenções em hábitos de vida.

A hipótese do presente trabalho é a de que o polimorfismo rs7903146 do gene *TCF7L2* esteja relacionado à adiposidade corporal e às alterações na homeostase da glicose em crianças.

Espera-se posteriormente que marcadores genéticos possam auxiliar na identificação de indivíduos com maior chance de se beneficiarem de intervenções sobre seus hábitos de vida, direcionando para uma abordagem preventiva e mesmo terapêutica, cada vez mais alvo molecular, a indivíduos de risco. Além do fato, de que há uma necessidade crucial de estratégias que integrem informações fisiológicas e com descobertas genéticas para entender melhor os caminhos biológicos e resposta a drogas, isto é, a farmacogenética.

Tendo em vista o sucesso limitado em estudos farmacogenéticos de resposta a sulfoniluréia e metformina, dois dos medicamentos mais prescritos para o tratamento do DM2 com milhões de usuários em todo o mundo (SRINIVASAN et al, 2018).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o polimorfismo rs7903146 no gene *TCF7L2*, em adolescentes matriculados na rede estadual de ensino da Região Metropolitana da Grande Vitória-ES, com a finalidade de verificar se há associação entre esse SNP e parâmetros da homeostase da glicose e excesso de peso.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a distribuição das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo rs7903146 do gene *TCF7L2* nos grupos estudados;
- Verificar se há associação do polimorfismo do gene *TCF7L2* e a variabilidade dos parâmetros antropométricos e bioquímicos, bem como parâmetros da homeostase da glicose e excesso de peso.

3 MÉTODOS

3.1 AMOSTRA E DADOS CLÍNICOS

Para a avaliação das características relativas aos parâmetros da homeostase da glicose da população com o polimorfismo do gene *TCF7L2*, utilizou-se dados previamente coletados e armazenados em laboratório, provenientes do estudo “Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis da síndrome metabólica”, o qual avaliou amostras de crianças e adolescentes da Região Metropolitana da Grande Vitória (RMGV), ES, Brasil, serão descritas a seguir. Uma descrição ainda mais detalhada da estratégia de recrutamento amostral foi publicada previamente (SILVA, 2017).

3.1.1 População de Crianças e Adolescentes da Região Metropolitana de Vitória

Os indivíduos que participaram do estudo epidemiológico, transversal e de base populacional “Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis da síndrome metabólica”, cujo objetivo foi determinar a prevalência de excesso de peso, síndrome metabólica e associações com os fatores de risco cardiovascular em adolescentes de 10 a 14 anos matriculados em escolas públicas estaduais distribuídas em sete municípios da Região Metropolitana de Vitória – ES, Brasil. Esses adolescentes apresentaram o mesmo status socioeconômico e foram recrutados aleatoriamente, sendo excluídos aqueles com obesidade secundária, doenças inflamatórias agudas ou crônicas ou em uso de corticosteroide e/ou anti-inflamatório.

Avaliações físicas cuidadosas foram realizadas na própria escola, entre agosto de 2012 e outubro de 2013. Foram obtidos os dados antropométricos (peso, estatura, perímetros corporais, dobras cutâneas e de composição corporal), aferida a pressão arterial e realizada coleta de 10 mL de sangue venoso, após jejum de 12 horas, para avaliação laboratorial dos níveis séricos de glicose, insulina, e estudo molecular.

Para a classificação de raça foi adotado o sistema classificatório proposto pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2008), que emprega cinco categorias de cor ou raça (branca, preta, amarela, parda ou indígena), sendo utilizado o método de auto declaração de pertença para identificação racial.

Para classificação do estado nutricional foi considerado o índice de massa corpórea por Idade (IMC/I), em escore Z, referente às curvas de IMC específicos para idade e sexo de acordo com Organização Mundial de Saúde (2007), utilizando-se o software WHO AnthroPlus versão 1.0.33. Foram incluídas no grupo com excesso de peso os adolescentes que apresentaram escore Z - IMC $\geq +1$ e no grupo sem excesso de peso aqueles com Z - IMC $< +1$.

A glicose foi dosada no equipamento Dimension (Siemens Healthcare Diagnostics inc[®]) por meio do kit GLUC Flex e método enzimático colorimétrico, considerando ponto de corte de glicemia de jejum alterada ≥ 100 mg/dL, pré-diabetes com glicemia de Jejum alterada entre 100-125 mg/dl e Diabetes com glicemia de jejum alterada ≥ 126 mg/dl segundo a International Diabetes Federation / International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (IDF/ISPAD, 2011). A Insulina foi analisada no equipamento Architect (Abbott Laboratories[®]) que utiliza Kit reagente Architect Insulin e método de quimioluminescência, considerando insulina aumentada \geq percentil 90, segundo estágio puberal e gênero. Para a estimativa da sensibilidade à insulina em jejum (HOMA%S), resistência à insulina (HOMA-IR) e função da célula beta pancreática (HOMA-% β) foi utilizado o “HOMA Calculator”, versão 2.2.1, desenvolvido pela Oxford University (FERREIRA et al, 2018).

3.2 GENOTIPAGEM DO POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE *TCF7L2*

O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico de acordo com o protocolo de Miller (1988). Para amostras com quantidade de sangue inferior a 2 ml foi utilizado o Kit comercial Puregene (Qiagen[®]). Para cada amostra, duas reações de PCR (*Polymerase chain reaction*) foram realizadas em paralelo, uma com os primers rs7903146 C e rs7903146 R e uma outra com os primers rs7903146 T e rs7903146 R, que estão descritos na Tabela

1.O DNA foi amplificado por PCR usando primers sintéticos alelo-específico de acordo com o protocolo de Dutra et al, 2008 modificado (desnaturação inicial por 5 minutos e 95°C, seguido por 35 ciclos de 40 segundos a 95°C, 1 minuto a 55°C e 40 segundos a 72°C; extensão final por 10 minutos a 72°C). Os produtos da reação de PCR foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida (12%), visualizados pela coloração em nitrato de prata a 0,1%, os alelos foram determinados com marcador de peso molecular (100 bp ladder, Invitrogen®).

A presença de uma banda 205-bp no PCR C ou T indicou a presença do alelo. A amostra foi considerada negativa quando não houve visualização da banda do alelo no gel. Controles positivos e negativos foram utilizados. Como o material inicial para cada reação de genotipagem alelo-específica foi proveniente da mesma amostra de DNA, uma foi utilizada como controle positivo para a outra na detecção de resultados falsos negativos secundários à falha na extração ou à presença de inibidores.

Tabela 3. Primers para a genotipagem C / T de rs7903146 por PCR alelo-específico. Fonte: DUTRA et al, 2008 (modificado).

Primer	Sequência 5'-3'	Descrição
rs7903146 C	GAACAATTAGAGAGCTAAGCACTTTTTAGAA <u>C</u>	Primer forward específico para detecção do alelo C
rs7903146 T	GAACAATTAGAGAGCTAAGCACTTTTTAGAG <u>A</u> T	Primer forward específico para detecção do alelo T
rs7903146 R	AGATGAAATGTAGCAGTGAAGTGC	Primer reverso comum

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram analisadas informações antropométricas e clínicas dos indivíduos da amostra para verificar se o polimorfismo em questão estava associado a

parâmetros como: raça, sexo, IMC, glicemia, HOMA-IR. Após a genotipagem os adolescentes foram divididos em dois grupos: sem excesso de peso e com excesso de peso. As frequências alélicas foram obtidas por contagem gênica e testadas quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW) através do teste de qui-quadrado.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SPSS versão 23.0 e a escolha dos testes não paramétricos se deu devido a distribuição não normal dos dados verificado através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Associações entre variáveis qualitativas foram realizadas pelo teste qui quadrado ou exato de Fischer (valor esperado menor que 5). Avaliamos os genótipos CC, CT e TT separadamente, e depois o CT e TT em combinação. Utilizando o teste de Mann-Whitney para variáveis quantitativas. As variáveis laboratoriais e antropométricas foram analisadas no total de indivíduos com os genótipos CC, CT e TT utilizando o teste Kruskal-Wallis. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4 RESULTADOS

4.1 GENOTIPAGEM DO POLIMORFISMO rs7903146 DO GENE *TCF7L2*

Foram genotipados 312 crianças (com mediana de idade de 12 anos), sendo 223 (71,5%) sem excesso de peso e 89 (28,5%) com excesso de peso. O grupo foi representado por 119 crianças do sexo masculino e 193 do sexo feminino. Nenhum escolar apresentou diabetes. Hiperinsulinemia foi vista em 66 adolescentes. Foram eliminadas 14 crianças que apresentaram glicemia em jejum alterada (≥ 100 mg/dL) seguindo a Federação Internacional de Diabetes como parâmetro.

A tabela 4 mostra os parâmetros investigados do metabolismo de glicose em nossa amostra de estudo.

Tabela 4. Estatística descritiva da idade, IMC e parâmetros do metabolismo da glicose em 312 crianças com e sem excesso de peso.

	Mediana	Interquartil
IDADE (anos)	12,7	11,8-13,6
IMC/KG m ²	19,1	17,3-22,0
IMC/Z	0,1	-0,5-1,3
GLI (mmol/L)	4,8	4,6-5,1
INS (mcU/mL)	11,6	8,6-16,5
HOMA-IR	1,7	1,3-2,4
HOMA- β %	152,7	120,8-194,3
HOMA-S%	59,4	41,4-80,2

INS= Dosagem de insulina

4.2 TESTE DE ASSOCIAÇÃO

De 312 crianças, 98 eram homozigotas CC (31,4%), 188 heterozigotas (60,3%) e 26 eram homozigotas TT (8,3%). Não consistente com o equilíbrio de Hardy – Weinberg ($p = <0,001$).

Não houve associação entre os genótipos e modelos genéticos de herança com os níveis de glicose em jejum, insulina, HOMA-IR e HOMA-S% na amostra total (tabela 5).

Os níveis de HOMA- β % foram associados aos genótipos no grupo com excesso de peso, sendo encontrados valores menores em crianças com genótipo CT ou TT ($p= 0,034$) também observado no modelo dominante (CT+TT $p= 0,013$), que testa a associação com a presença de pelo menos um alelo T (tabela 6).

Tabela 5. Distribuição genotípica nos parâmetros de metabolismo da glicose e testes de associação com genótipos rs7903146 em *TCF7L2*.

	CC	CT	TT	p (3 grupos)	p (CC vs CT + TT)
n (%)	98 (31,4%)	188 (60,3%)	26 (8,3%)		
IDADE/ANOS	12,6 (11,8-13,6)	12,8 (11,8-13,6)	12,8 (12,1-13,7)	0,537	0,527
IMC(kgm ²)/idade	19,0 (16,8-20,2)	19,2 (17,5-22,5)	19,4 (17,6-22,0)	0,229	0,090
Glicose de Jejum (mmol/L)	4,8 (4,5-5,0)	4,9 (4,6-5,1)	4,7 (4,5-4,9)	0,132	0,313
INS (mcU/mL)	11,4 (8,0-16,4)	11,7 (8,6-16,6)	12,6 (8,7-17,8)	0,763	0,549
HOMA-IR	1,6 (1,2-2,3)	1,7 (1,3-2,4)	1,8 (1,3-2,5)	0,739	0,480
HOMA-β%	155,2 (119,5-195,5)	149,8 (120,8-193,1)	161,7 (135,9-210,5)	0,573	0,793
HOMA-S%	61,2 (43,2-86,7)	59,3 (41,4-79,0)	56,0 (39,5-77,5)	0,739	0,482

As características foram apresentadas como mediana (em parêntesis estão o primeiro e o terceiro interquartil). P<0 05 foi considerado significativo.

INS= Dosagem de insulina.

Tabela 6. Características de HOMA-IR, HOMA-β% e HOMA-S% entre os genótipos e modelos de herança.

SEM EXCESSO DE PESO							
	CC	CT	TT	p (3 grupos)	p (CCvsCT+TT)	p (TTvsCT+CC)	n
HOMA-IR	1,48 (0,36-3,34)	1,51 (0,43-6,17)	1,53 (0,75-3,09)	0,436	0,199	0,844	
HOMA-β%	146,20 (50,10-294,70)	144,70 (63,80-478,30)	155,50 (83,00-394,20)	0,566	0,498	0,343	223
HOMA-S%	67,50 (29,90-278,40)	66,40 (16,20-230,90)	65,70 (32,40-133,20)	0,442	0,202	0,844	
COM EXCESSO DE PESO							
	CC	CT	TT	p (3 grupos)	p (CCvsCT+TT)	p (TTvsCT+CC)	N
HOMA-IR	2,50 (1,12-5,88)	2,08 (0,44-4,81)	2,48 (1,31-3,53)	0,239	0,118	0,736	
HOMA-β%	206,85 (111,70-387,50)	177,10 (55,90-343,90)	194,05 (112,20-280,60)	0,034	0,013	0,818	89
HOMA-S%	40,15 (17,00-89,40)	48,00 (20,80-227,50)	40,30 (28,30-76,20)	0,238	0,118	0,731	

As características foram apresentadas como mediana (em parêntesis estão o mínimo e o máximo valor). p<0 05 foi considerado significativo.

5 DISCUSSÃO

A prevalência da obesidade cresceu entre crianças e adolescentes (Xu and Xue, 2016; Shloim et al, 2015), atingindo no Brasil aproximadamente 6% (IBGE, 2010) despertando enorme preocupação, uma vez que jovens obesos são mais propensos a se tornarem adultos obesos (Giovaninni et al, 2014). Neste trabalho verificamos que o modelo genético dominante (CT+TT X CC) para o polimorfismo rs7903146, junto com o HOMA- β % está associado ao excesso de peso em adolescentes.

Nossas análises mostraram que o modelo genético dominante (CT+TT x CC) para o SNP rs7903146 não difere entre os grupos de IMC/Idade nos adolescentes (tabela 5). Como o SNP rs7903146 influencia a composição corporal ainda não está claro e requer mais estudos, principalmente quanto ao fenótipo, que de acordo com algumas evidências, muda com a idade e depende de outros fatores (Korner et al, 2007; Zhao et al, 2010; Barker et al, 2011, Phillips et al 2012).

Dabelea et al (2011) propõe que variações do *TCF7L2* levem ao diabetes tipo 2 por uma deficiência na secreção de insulina, ao invés de resistência à insulina. Em seu estudo, jovens afro-americanos (AA) apresentaram frequências mais altas do alelo de risco do que os observados em casos de adultos. A associação de *TCF7L2* e diabetes tipo 2 na juventude é independente do IMC. De modo que, a variação do *TCF7L2* está fortemente associada com um risco aumentado de diabetes tipo 2 de início precoce entre jovens AA nos EUA. Esta associação é independente de obesidade, com o tamanho do efeito sendo maior do que visto em adultos. Em nosso estudo o HOMA- β foi associado ao genótipo somente nas crianças com excesso de peso, sugerindo uma associação contexto dependente, como sugerido por alguns autores (LI et al 2018; SRINIVASAN et al 2018; CHEN et al 2018).

O *TCF7L2* codifica um fator de transcrição envolvido na sinalização Wingless type (Wnt) catenina-dependente (Wang et al, 2015; Van der Kroef et al, 2016). A tradução da via Wnt está associada com a embriogênese, desenvolvimento das ilhotas pancreáticas e adipogênese (Yang et al, 2012; Chien et al, 2007). A perda de função do *TCF7L2* inativa a via Wnt promovendo adipogênese, de forma que o aumento da

adiposidade, verificada pelo IMC, é um grande fator de risco para desenvolvimento de dislipidemias, resistência à insulina, hiperinsulinemia e DM2 (Ferreira et al, 2010).

Ferreira et al (2018), mostraram que portadores do alelo rs7903146 T do gene *TCF7L2* apresentam menores concentrações plasmáticas basais de peptídeo C do que os não portadores, com concentrações plasmáticas similares de glicose e glucagon. Estes dados estão de acordo com os de outros estudos que sugerem que o efeito diabetogênico associado com *TCF7L2* pode ser expresso na secreção de insulina.

Ferreira et al, (2018) postula a hipótese de que para explicar esses resultados as variantes no *TCF7L2* perturbam a adipogênese e/ou o adipócito alterando a função de regulação transcricional PPAR γ levando à deposição de triglicérides em tecidos periféricos (isto é, fígado e músculo) resultando em resistência ou que o defeito na secreção de insulina seria exacerbado por AGL gerando uma resistência à insulina induzida.

É possível que com o aumento da idade, os adolescentes que possuem duas cópias do alelo rs7903146 T sofram falência das células β pancreáticas, passando ou não por uma prévia resistência insulínica, que leva a hiperinsulinemia e se convertam em diabéticos, conforme alguns trabalhos tem indicado (Cauchi et al, 2006; Cauchi et al, 2008; Barker et al, 2011; Zhao, 2010; Korner et al, 2007; Raitakari et al, 2007).

Desde os estudos Genome wide association study (GWAS) do gene *TCF7L2* e DM2 (Grant et al, 2006; Florez et al, 2006) este gene tem sido muito estudado, com evidências de associação com níveis de insulina, resistência a insulina, glicose de jejum, IMC, gordura no fígado, (Haupt et al, 2010; Gjesing et al, 2011; Cauchi et al, 2008; Pujadas et al, 2016; Yang et al, 2012; Costa, 2014; Grant et al, 2006; Florez et al, 2006; Groves et al, 2006) em populações adultas europeias (Mota et al, 2012; Scott, 2007; Florez, 2006), porém com relatos conflitantes sobre o impacto do *TCF7L2* no aumento do risco de diabetes, principalmente em grupos étnicos diferentes do europeu (Yang et al, 2012; Lyssenko, 2007; Lee, 2016, Barros et al, 2014). Em populações pediátricas, o excesso de gordura corporal também tem

mostrado forte associação com várias comorbidades (Ferreira et al, 2013), principalmente alterações no metabolismo da glicose.

A resistência insulínica na infância é preditora de resistência insulínica no adulto, está associada fortemente à gordura corporal, variando de acordo com o IMC (Sinaiko et al, 2005). É possível que nossos resultados indiquem que adolescentes com excesso de peso pode haver tendência a apresentarem HOMA-IR e HOMA – β % alterados. Roth et al. (2012) descreve que genótipos TT e CT não estavam presentes na maioria dos pacientes que apresentaram HOMA-IR elevado, o índice HOMA- β % foi maior em homozigotos TT o que indica *TCF7L2* para ser um gene de susceptibilidade para o desenvolvimento de tolerância à glicose diminuída em crianças obesas demonstrado em vários estudos de coorte adultos. Diferente do observado em nosso estudo, onde os índices HOMA- β % foram menores em portadores do alelo T.

A partir do trabalho pioneiro de Korner et al, 2007 em crianças e adolescentes, outros estudos foram realizados e assim como em adultos, os resultados da associação do *TCF7L2* e DM2 são conflitantes. Raitakari et al, 2007 trabalhando com adolescentes finlandeses com faixa etária semelhante aos adolescentes deste estudo, sugerem que portadores do alelo T possuem maior prevalência de intolerância à glicose, porém a glicemia de jejum e a insulina não diferiram entre os genótipos, semelhante aos nossos resultados possivelmente devido à idade.

Em adolescentes alemães Korner et al (2007) também demonstraram que os modelos dominante e aditivo estão associados com níveis aumentados de glicose de jejum. Roth et al, (2008) encontraram diferenças marginais entre os genótipos e a glicemia. O alelo T rs7903146 também foi associado com níveis de glicose elevado no sangue, nos trabalhos de Giannini et al (2014); Barker et al (2011); Zahao et al (2010), indicando que variantes do *TCF7L2* conferem um maior risco de comprometimento do metabolismo da glicose na infância e adolescência.

Ausência de associação foi relatado por Reinehr et al (2008); Roth et al (2008) e Marquezini et al (2009). Dabelea et al (2011) encontraram associação entre o alelo T do gene *TCFL2* e DM2 em adolescentes com descendência afro-americana

e idade média de 15.9 anos, mas não em brancos não-hispânicos. Nossos resultados não mostraram associação dos genótipos do SNP rs7903146 com glicemia de jejum, no entanto houve associação entre HOMA – $\beta\%$ e o genótipo e modelo de herança dominante.

HOMA- β é o método mais utilizado para estimar a secreção de insulina, através da estimativa da função da célula beta a partir dos valores de insulina e da glicemia em jejum, que refletem o balanço entre a produção hepática de glicose e a secreção de insulina. Segundo o método, essa relação é mantida por um mecanismo de retroalimentação (feedback) entre o fígado e as células beta.

Quando os resultados de HOMA estão acima dos valores de referência, quer dizer que existe maior chance de desenvolver doenças cardiovasculares, síndrome metabólica ou diabetes tipo 2, por exemplo. No diabetes mellitus tipo 2 a função beta-celular está reduzida em 50% no momento do diagnóstico. Estima-se que esta perda de função tenha início 10-12 anos antes (VENCIO et al, 2013).

Em nosso estudo, os níveis de HOMA-B foram menores para portadores do alelo T com excesso de peso ($p=0,034$). Resultado semelhante foi encontrado por Dabelea et al (2011), que observaram em adolescentes com descendência afro-americana e em brancos não-hispânicos sem DM2 que, apenas os níveis de glicose foram maiores em portadores do alelo T, embora houvesse uma tendência não significativa para níveis mais baixos de HOMA-B ($p=0,09$) em portadores do T.

Neste estudo não encontramos relação dos genótipos com sexo, raça, glicose e valores de HOMA-IR. Estes dados corroboram com o estudo de Reinehr et al (2008) com crianças e adolescentes caucasianos, no qual sexo, insulina, glicose, HOMA-IR não diferiram entre os genótipos. Roth et al (2008), também não encontraram associação entre os genótipos e valores de HOMA-IR em adolescentes. Marquezine (2009) não observou associação com a glicemia e índice resistência à insulina (HOMA-IR) em crianças da região de Itapetininga – SP, Brasil.

O equilíbrio de Hardy Weinberg é um princípio importante da genética das populações. Desvio desse equilíbrio tem sido considerado como um indicador de que os alelos não foram segregados de forma independente, o que pode indicar um

cruzamento não aleatório, pequeno número amostral, ou uma mutação recente que ainda não atingiu o equilíbrio, como pontuado por Namvaran et al (2011). No presente estudo, o desequilíbrio pode ser explicado pelo pequeno número amostral e pela diversidade étnica da população.

Alguns fatores podem ter interferido com os achados do presente estudo. Em primeiro lugar, podemos apontar o nosso número amostral e a ausência de indivíduos diabéticos. Em segundo lugar a origem racial dos indivíduos neste estudo foi autodeclarada e não podemos desconsiderar a possibilidade de estratificação populacional, é importante mencionar que a alta frequência de heterozigotos observada em nosso estudo e no de Marquezine et al (2008) seja devido a heterogeneidade da população brasileira, caracterizada por alto grau de miscigenação oriunda do nosso processo de colonização com imigrantes dos continentes europeu, africano e indígenas (Barros et al, 2014).

Visto que os estudos presentes na literatura utilizam adultos como foco de estudo, em sua grande maioria, populações de origem europeia para as análises da influência da genética na homeostase da glicose, é de extrema importância o desenvolvimento de pesquisas com essa mesma finalidade em outros grupos étnicos e em crianças, como o realizado no presente estudo.

Uma limitação pode ter sido o número de amostras e, portanto, é aconselhável a realização de estudos posteriores que envolvam uma quantidade maior de participantes. Também, não podemos excluir que a interação do *TCF7L2* e fatores como dieta e atividade física, não avaliados neste estudo, possam influenciar no risco aumentado de obesidade nesses adolescentes. E por fim, embora o SNP rs7903146 seja a variante mais frequentemente associada ao DM2, devemos ressaltar a possibilidade de que outros polimorfismos neste gene possam contribuir para associações significativas com as alterações do metabolismo da glicose e DM2 na nossa população.

6 CONCLUSÕES

Foi observado em nosso estudo associação entre o polimorfismo rs7903146 e alterações precoces do metabolismo da glicose e ao risco aumentado em crianças com sobrepeso no modelo dominante.

7 REFERÊNCIAS

ABESO, Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/>> Acessado em 14 de junho de 2018.

ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Type 2 Diabetes in Children and Adolescents. **Diabetes Care**, v. 3, 2000.

ADYA R., TAN B., RANDEVA H. S., "Differential Effects of Leptin and Adiponectin in Endothelial Angiogenesis," Journal of Diabetes Research, ID 648239, 12 pages, 2015.

ASSMANN, TS et al. The TCF7L2 rs7903146 (C/T) polymorphism is associated with risk to type 2 diabetes mellitus in Southern-Brazil. **Arq Bras Endocrinol Metab.** V 58/9, 2014.

BAHIA L., et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study **BMC Public Health**, p.1-7, 2012.

BAHIA L.R.; ARAÚJO D.V. Economic impact of obesity in Brazil. Revista HUPE, Rio de Janeiro, v.13, n. 1, p. 13-17, 2014.

BALSAN, Guilherme Ardenghi et al. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 61, n. 1, p. 72-80, Feb. 2015. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302015000100019&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 09 Abr. 2018.

BARKER A., SHARP S.J., TIMPSON N.J., BOUATIA-NAJI N., WARRINGTON N.M., KANONI S., et al. Association of genetic Loci with glucose levels in childhood and adolescence: a meta-analysis of over 6,000 children. **Diabetes**, v. 60(6), p.1805-12, 2011.

BARROS CMAR, et al. Association of the rs7903146 and rs12255372 polymorphisms in the TCF7L2 gene with type 2 diabetes in a population from northeastern Brazil. **Genet. Mol. Res.** V. 13 (3): p. 7889-7898, 2014.

BOULÉ N.G., HADDAD E., KENNY G.P., WELLS G.A., SIGAL R.J. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *The Journal of the American Medical Association.* v. 285, n.10, p. 1218 - 1227, 2001.

BRASIL. VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO. VIGITEL, p 1-162, 2017.

CAUCHI S., et al. Effects of TCF7L2 polymorphisms on obesity in European populations. **Obesity**, v. 16, p.476-482, 2008.

CHEN X, et al. The Diabetes Gene and Wnt Pathway Effector TCF7L2 Regulates Adipocyte Development and Function. **Diabetes**, v.67 (4) p.554-568, 2018.

CHIEN A.J., MOON R.T. WNTs and WNT receptors as therapeutic tools and targets in human disease processes. **Front Biosci**, v.12, p.448-57, 2007.

COSTA C.S. Avaliação dos polimorfismos rs7903146 e rs12255372 do gene *tcf7l2* no desenvolvimento do Diabetes *Mellitus* tipo 2. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2014.

DABELEA D., DOLAN L.M., D'AGOSTINO R., J.R., HERNANDEZ A.M., MCATEER J.B., HAMMAN R.F., et al. Association testing of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in multi-ethnic youth. **Diabetologia**, v.54(3), p.535-9, 2011.

DASÍLIO K.L.A. Análise da expressão de genes relacionados à adipogênese e à inflamação em tecido adiposo de mulheres com obesidade grau III. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – RENORBIO - Ponto focal: Universidade Federal do Espírito Santo. VITÓRIA, 2013.

DUTRA, Ludmila Alves Sanches et al. Allele-specific PCR assay to genotype SNP rs7903146 in TCF7L2 gene for rapid screening of diabetes susceptibility. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 52, n. 8, p. 1362-1366, 2008.

FERREIRA M. C. Análise da resposta hormonal pancreática antes e após tratamento com GLP-1 mimético em indivíduos com diabetes tipo 2 portadores da variante rs7903146 do gene *TCF7L2*. Tese (doutorado)- Programa de Endocrinologia - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

FERREIRA MC, et al. TCF7L2 correlation in both insulin secretion and postprandial insulin sensitivity. **Diabetol Metab Syndr**, v. 10, p.37, 2018.

FLEGAL, MK et al. Prevalence of Obesity and Trends in the Distribution of Body Mass Index Among US Adults, 1999-2010. **JAMA**, v 307(5), p. 491-497, 2012.

FLOREZ J.C., et al. *TCF7L2* Polymorphisms and Progression to Diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med*, v. 355, p. 241-50, 2006.

FLOREZ JC. The new type 2 diabetes gene TCF7L2. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. Jul;10(4):391-6, 2007.

FRANCIS, LA et al. Parent Overweight Predicts Daughters Increase in BMI and Disinhibited Overeating from 5 to 13 Years. **OBESITY** Vol. 15 No. 6, 2007.

FREATHY, R. M.; et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study: Common genetic variants in GCK and TCF7L2 are associated with fasting and postchallenge glucose levels in pregnancy and with the new consensus definition of gestational diabetes mellitus from the I. **Diabetes**, v. 59, n. 10, p. 2682–2689, 2010.

FREATHY, R. M.; et al. Type 2 diabetes TCF7L2 risk genotypes alter birth weight: a study of 24,053 individuals. **American journal of human genetics**, v. 80, n. 6, p. 1150–1161, 2007.

GELONEZE B., TAMBASCIAM.A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. *Arq Bras End Metab*. v.50, p.208-15, 2006. □

GENE CARDS, Human Gene Database. **TCF7L2 Gene (Protein Coding)**.

Disponível em: <<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=tcf7l2>> Acesso em 16 março 2018.

GIACAGLIA, LR. **Resistência insulínica, síndrome metabólica e risco cardiovascular**. SBD, ebook 2.0, v6, 2018. Disponível

em:<<https://www.diabetes.org.br/ebook/component/k2/item/36-resistencia-insulinica-sindrome-metabolica-e-risco-cardiovascular>> Acesso em: 27 de maio 2018.

GIANNINI C et al Co-occurrence of Risk Alleles in or Near Genes Modulating Insulin Secretion Predisposes Obese Youth to Pre diabetes. **Diabetes Care** Vol.37, 2014.

GJESING A.P., KJEMS L.L., VESTMAR M.A., GRARUP N., LINNEBERG A., DEACON C.F., et al. Carriers of the *TCF7L2* rs7903146 TT genotype have elevated levels of plasma glucose, serum proinsulin and plasma gastric inhibitory polypeptide (GIP) during a meal test. **Diabetologia**, v.54(1), p.103-10, 2011.

GRANT SF, et al. Variant of transcription factor7-like 2 (*TCF7L2*) gene confers risk of type 2 diabetes. **Nat Genet**. 38(3):320–3, 2006.

GROVES CJ, ZEGGINI E, MINTON J, FRAYLING TM, WEEDON MN, RAYNER NW, et al. Association analysis of 6,736 U.K. subjects provides replication and confirms *TCF7L2* as a type 2 diabetes susceptibility gene with a substantial effect on individual risk. **Diabetes**, v.55(9), p.2640-4, 2006.

HAGMAN E., et al. Impaired fasting glucose prevalence in two nationwide cohorts of obese children and adolescents. **Int J Obes**, v.38, p.40–45, 2014.

HELGASON, A et al. Refining the impact of *TCF7L2* gene variants on type 2 diabetes and adaptive evolution. **Nature Genetics**, v 39(2), 2007.

HOLM et al. The Ethics of Childhood Obesity Treatment – from the Childhood Obesity Task Force (COTF) of European Association for the Study of Obesity (EASO). **Obesity facts**, v.7, p.274-281, 2014.

HSIAO, T. J.; LIN, E. A common rs7903146 variant of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with type 2 diabetes mellitus and fasting glucose in a Taiwanese population. **Diabetes & Metabolism**, p. 7–9, 2016.

KAMINSKA, D; PIHLAJAMÄKI, J. Regulation of alternative splicing in obesity and weight loss. **Adipocyte**. v. 2:3, p. 143–147, 2013.

KENNY SJ, AUBERT RE, GEISS LS. Diabetes in America [Portable Document Format (pdf) on Internet]. 2nd ed. Bethesda, Md: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US); 1995. Chapter 4, Prevalence and Incidence of Non-Insulin-Dependent Diabetes; [Cited Feb 2009]; p. 47–68. Disponível em:<<http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/America/pdf/chapter4.pdf>> Acesso em 01 maio de 2018.

KITSANTAS P, GAFFNEY KF. Risk profiles for overweight/obesity among preschoolers. **Early Human Development** v. 86, p. 563–568, 2010.

KOO BK, CHO, Y. M., PARK, B. L., CHEONG, H. S., SHIN, H. D., JANG, H. C., KIM, S. Y., LEE, H. K., PARK, K. S. . Polymorphisms of KCNJ11 (Kir6.2 gene) are associated with Type 2 diabetes and hypertension in the Korean population. **Diabetic Medicine**. 24(2):178-86, 2007.

KORNER A, BERNDT J, STUMVOLL M, KIESS W, KOVACS P. TCF7L2 gene polymorphisms confer an increased risk for early impairment of glucose metabolism and increased height in obese children. **J Clin Endocrinol Metab**, v.92(5), p.1956-60, 2007.

KOSTOVSKI, M et al. Metabolic Profiles in Obese Children and Adolescents with Insulin Resistance. **Journal of Medical Sciences**, v. 6, p. 511-518, 2018.

KURTOGLU S, HATIPOGLU N, MAZUIOGLU M, KENDIRCI M, KESKIN M, KONDOLOT M. Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. **J Clin Res Ped Endo**. V.2(3), p.100-6, 2010.□

LEE M., et al. Genome-wide association study for the interaction between BMR and BMI in obese Korean women including overweight. **Nutrition Research and Practice**, v.10(1), p.115-124, 2016.

LIN, P. C.; et al. Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) rs7903146 polymorphism as a risk factor for gestational diabetes mellitus: A meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, p. 1–16, 2016.

LI R , et al. The Wnt Signaling Pathway Effector TCF7L2 Mediates Olanzapine-Induced Weight Gain and Insulin Resistance. **Front Pharmacol**, v,9, p.379, 2018.

LYSSENKO V, et al. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. **J. Clin. Invest.** V. 117, p. 2155–2163, 2007.

MARQUEZINE F.G. **Papel do polimorfismo rs7903146 do gene TCF7L2 na população brasileira e sua aplicação na predição ao risco de diabetes tipo 2** [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de medicina da USP; 2009.

MARQUEZINE, GF et al. TCF7L2 variant genotypes and type 2 diabetes risk in Brazil: significant association, but not a significant tool for risk stratification in the general population. **BMC Medical Genetics**, v9:106, 2008.

MATTHEWS DR. Insulin resistance and -cell function – a clinical perspective. **Diabetes Obes Metab.** v.3, p.28-33, 2001.

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

MOTA, L. M. et al. Lack of association between the CC genotype of the rs7903146 polymorphism in the TCF7L2 gene and rheumatoid arthritis. **Rev Bras Reumatol.** v. 52, n. 4, p.523-8, Aug. 2012.

NAMVARAN F, AZARPIRA N, GERAMIZADEH B, RAHIMI-MOGHADDAM P. **Distribution and genotype frequency of adiponectin (+45 T/G) and adiponectin receptor2 (+795 G/A) single nucleotide polymorphisms in Iranian population.**

Gene [online]. 2011 Oct 15 [cited 2016 jun 05]; 486(1-2):97-103. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21810455>> Acesso em: 05 maio 2018.

NIH, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Diabetes in America. Disponível em: <<https://www.niddk.nih.gov/about-niddk/strategic-plans-reports/diabetes-in-america-3rd-edition>> Acesso em 02 de fevereiro 2018.

OMS, Organização Mundial de Saúde. <http://www.paho.org/bra/> acessado em 15 de maio de 2018.

OMS, Organização Mundial de Saúde. <http://www.paho.org/bra/> acessado em 15 de maio de 2018.

PATE, RR et al. Factors associated with development of excessive fatness in children and adolescents: a review of prospective studies. **obesity reviews**, v 14, p 645–658, 2013.

PENG, S et al. TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: a comprehensive and updated meta-analysis involving 121 174 subjects. **Mutagenesis** vol. 28 no. 1 p. 25–37, 2013.

PIERCE M, KEEN H, BRADLEY C. Risk of diabetes in offspring of parents with non-insulin-dependent diabetes. *Diabet Med.* Jan;12(1):6-13, 1995.

POLLEY,DC et al. Intrafamilial Correlates of Overweight and Obesity in African-American and Native- American Grandparents, Parents, and Children in Rural Oklahoma. **J Am Diet Assoc.** v. 105, p. 262-265, 2005.

PUJADAS G., CERVANTES S., TUTUSAUS A., EJARQUE M., SANCHEZ L., GARCIA A., et al. Wnt9a deficiency discloses a repressive role of *TCF7L2* on endocrine differentiation in the embryonic pancreas. *Sci Rep*, v.6:19223, 2016.

PULGARON ER, DELAMATER AM. Obesity and Type 2 Diabetes in Children: Epidemiology and Treatment. **Curr Diab Rep.** August, v 14(8), p 508, 2014.

RAITAKARI O.T., RONNEMAA T., HUUPPONEN R., VIKARI L., FAN M.,

- MARNIEMI J., et al. Variation of the transcription factor 7-like 2 (*TCF7L2*) gene predicts impaired fasting glucose in healthy young adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Diabetes Care*, v.30(9), p.2299-301, 2007.
- REINEHR T., FRIEDEL S., MUELLER T.D., TOSCHKE A.M., HEBEBRAND J., HINNEY A. Evidence for an influence of *TCF7L2* polymorphism rs7903146 on insulin resistance and sensitivity indices in overweight children and adolescents during a lifestyle intervention. *Int J Obes*, v.32(10), p.1521-4, 2008.
- RODACKI, M et al. A Secreção Residual do Peptídeo C Faz Diferença no Tratamento do Diabetes Melito Tipo 1? **Arq Bras Endocrinol Metab** v 52, 2008.
- ROMUALDO M.C.S.R., DE NÓBREGA F.J., ESCRIVÃO M.A.M.S. Insulin resistance in obese children and adolescents. *J Pediatr*, v.90(6), p.600-607, 2014.
- ROSENBLOOM AL, et al. Type 2 diabetes mellitus in the child and adolescent. **Pediatric Diabetes**, v. 9, p. 512–526, 2008.
- ROTH C.L., HINNEY A., REINEHR T., SCHREINER F., NGUYEN T.T., MULLER T., et al. *TCF7L2* polymorphism rs7903146 and predisposition for type 2 diabetes mellitus in obese children. *HormMetab Res*, v.40(10), p.713-7, 2008.
- SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/sbd>> acessado em 20 de junho de 2018.
- SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/sbd>> acessado em 03 de julho de 2018.
- SHLOIM N.T. et al. Parenting Styles, Feeding Styles, Feeding Practices, and Weight Status in 4–12 Year-Old Children: A Systematic Review of the Literature. **Frontiers in Psychology**, v. 6, Article 1849, 2015.
- SILVA JP, et al. Growth and nutritional status of adolescents of public education system. **J Hum Growth Dev**, v. 27(1), p. 42-48, 2017.

SINAIKO AR, et al. Relation of body mass index and insulin resistance to cardiovascular risk factors, inflammatory factors, and oxidative stress during adolescence. **Circulation**, v. 111, p.1985-91, 2005.

SRINIVASAN S, et al. TCF7L2 Genetic Variation Augments Incretin Resistance and Influences Response to a Sulfonylurea and Metformin: The Study to Understand the Genetics of the Acute Response to Metformin and Glipizide in Humans (SUGAR-MGH). **Diabetes Care**, v. 41(3), p. 554-561, 2018.

TAYLOR A. The genetics of type 2 diabetes: A review. **International Journal of Diabetes and Metabolism**, v.14 (2), p.76-81, 2006.

THIBAULT, H et al. Risk factors for overweight and obesity in French adolescents: Physical activity, sedentary behavior and parental characteristics. **Nutrition**, v. 26 p. 192–200, 2010.

VAN DER KROEF S., et al. (2016) Association between the rs7903146 Polymorphism in the TCF7L2 Gene and Parameters Derived with Continuous Glucose Monitoring in Individuals without Diabetes. **PLoS ONE**, v.11 (2), p. 1-10, 2016.

WANG, S.; et al. The Protective Effect of Transcription Factor 7-Like 2 Risk Allele rs7903146 against Elevated Fasting Plasma Triglyceride in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis. **Journal of Diabetes Research**, v. 2015, 2015.

WELTERS HJ, KULKARNI RN. Wnt signaling: relevance to beta-cell biology and diabetes. **Trends Endocrinol Metab**, v 19(10), p.349-55, 2008.

VENCIO S, et al. **Manual de Exames Laboratoriais na Prática do Endocrinologista, anexo doenças osteometabólicas**. 1 Ed, Rio de Janeiro, Gen 2013.

XU S., XUE Y. Pediatric Obesity: Causes, Symptoms, Prevention And Treatment: Experimental And Therapeutic Medicine, v. 11, p. 15-20, 2016.

YAGHOOTKAR, H.; FREATHY, R. M. Genetic origins of low birth weight. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 15, n. 3, p. 258–264, 2012.

YANG H., LI Q., LEE J.H., SHU Y. Reduction in *TCF7L2* expression decreases diabetic susceptibility in mice. *Int J BiolSci*, v.8 (6), p.791-801, 2012.

YI F, et al.TCF-4 Mediates Cell Type-specific Regulation of Proglucagon Gene Expression by β -Catenin and Glycogen Synthase Kinase-3 β . **The Journal of Biological Chemistry**, V. 280, No. 2, p. 1457–1464, 2005.

ZHAO J., BRADFIELD J.P., ZHANG H., ANNAIAH K., WANG K., KIM C.E., et al. Examination of all type 2 diabetes GWAS loci reveals HHEX-IDE as a locus influencing pediatric BMI. *Diabetes*, v.59(3), p.751-5, 2010.

ZHOU, Y.; et al. TCF7L2 is a master regulator of insulin production and processing. **Human molecular genetics**, v. 23, n. 24, p. 1–34, 2014.