

ANÁLISE DOS GENES *GDF15* E *FNDC5* COMO BIOMARCADORES NO CONTEXTO DA OBESIDADE GRAVE NO BRASIL

ANALYSIS OF *GDF15* AND *FNDC5* GENES AS BIOMARKERS IN THE CONTEXT OF SEVERE OBESITY IN BRAZIL

Laura Wendling Gouvêa¹, Izadora Sthephanie da Silva Assis², Tamara Silva³, Gabriella de Medeiros Abreu⁴, Verônica Marques Zembrzuski⁵, Ana Carolina Proença da Fonseca⁶.

1. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) da Universidade Federal do Rio de Janeiro
Email: laurawgouvea@gmail.com
2. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) do Instituto Oswaldo Cruz
3. Professora do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional e Pesquisadora do Laboratório de Genética - UNIGRANRIO/AFYA
4. Professora do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional e Pesquisadora do Laboratório de Genética - UNIGRANRIO/AFYA
5. Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) e Pesquisadora do Instituto Oswaldo Cruz
6. Professora do Programa de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional e Pesquisadora do Instituto Oswaldo Cruz

Eixo: 01 - Saúde

RESUMO

A obesidade comum é uma doença crônica de etiologia multifatorial. O gene *GDF15* codifica uma proteína de mesmo nome que, fisiologicamente, circula em baixas quantidades e contribui para a manutenção da homeostase. Em condições patológicas, há aumento na circulação e agravamento de processos inflamatórios. A via de sinalização da proteína resulta na diminuição do apetite e, portanto, é proposto que a presença de variantes genéticas neste gene possa vir a prejudicar algum de seus estágios, impedindo o êxito em seu funcionamento. A mesma via também pode levar à diminuição do peso corporal pela ativação de genes lipolíticos e/ou termogênicos, sendo o *FNDC5* um gene candidato à co-regulação. Em função de indivíduos com obesidade grave apresentarem níveis elevados dessa proteína circulante, sugere-se a GDF-15 como potencial biomarcador para a doença. Este estudo buscou analisar o perfil de variantes genéticas nos genes *GDF15* e *FNDC5* e observar seus efeitos na susceptibilidade à obesidade e em traços relacionados. A coorte do estudo foi composta por n=546 indivíduos, entre casos (n= 328) e controles (n= 218). Os critérios de inclusão para o grupo de casos eram possuir mais de 18 anos no momento da coleta e IMC ≥ 35 kg/m². Para controles, os critérios de inclusão foram idade superior a 18 anos e IMC entre 18,5 - 24,9 kg/m². Para ambos grupos, os critérios de exclusão foram (1) gestantes, (2) lactantes e (3) uso de medicamentos direcionados a ganho ou perda de peso. As variantes genéticas *GDF15* rs1058587, *FNDC5* rs3480 e *FNDC5* rs16835198 foram genotipadas por PCR em tempo real com sondas TaqMan. Embora as variantes avaliadas não confirmem risco para o desenvolvimento de obesidade grave, os dados mostraram o impacto da variante *FNDC5* rs3480 sobre marcadores metabólicos e pró-inflamatórios indicando-o como um candidato relevante para futuras abordagens moleculares.

Palavras-chave: Obesidade grave, *GDF15*, *FNDC5*, Associação genética, Biomarcador

ABSTRACT

Common obesity is a chronic disease with a multifactorial etiology. The *GDF15* gene encodes a protein of the same name that, under physiological conditions, circulates in low quantities and contributes to the maintenance of homeostasis. Under pathological conditions, there is an increase in its circulation and a worsening of inflammatory processes. The protein's signaling pathway results in reduced appetite; therefore, it is proposed that the presence of genetic variants in this gene may impair one of its stages, preventing it from functioning properly. The same pathway may also lead to weight loss through the activation of lipolytic and/or thermogenic genes, with *FNDC5* being a candidate gene for co-regulation. Since individuals with severe obesity have elevated levels of this circulating protein, GDF-15 is suggested as a potential biomarker for the disease. This study sought to analyze the profile of genetic variants in the *GDF15* and *FNDC5* genes and to observe their effects on susceptibility to obesity and related traits. The study cohort consisted of $n = 546$ individuals, including cases ($n = 328$) and controls ($n = 218$). The inclusion criteria for the case group were being over 18 years of age at the time of data collection and having a BMI ≥ 35 kg/m². For controls, the inclusion criteria were being over 18 years of age and having a BMI between 18.5 and 24.9 kg/m². For both groups, the exclusion criteria were (1) pregnant women, (2) breastfeeding women, and (3) use of medications intended for weight gain or loss. The genetic variants *GDF15* rs1058587, *FNDC5* rs3480, and *FNDC5* rs16835198 were genotyped by real-time PCR using TaqMan probes. Although the variants evaluated do not confer a risk for the development of severe obesity, the data showed the impact of the *FNDC5* rs3480 variant on metabolic and pro-inflammatory markers, indicating it as a relevant candidate for future molecular approaches.

Keywords: Severe Obesity, *GDF15*, *FNDC5*, Genetic Association, Biomarker

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica, definida pelo excesso de gordura corporal em níveis que geram prejuízo para a saúde do indivíduo. O diagnóstico é feito a partir do cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), sendo a classificação dividida em três diferentes graus¹.

Na obesidade poligênica, variantes genéticas conferem uma predisposição ao ganho de peso com efeitos metabólicos modestos. A manifestação do fenótipo da obesidade, contudo, é dependente da exposição a um ambiente obesogênico, caracterizado por dieta hipercalórica, sedentarismo e fatores sociais².

Em 2007, com a publicação de Johnen e colaboradores³, foi sustentado que um novo gene poderia estar relacionado ao controle do metabolismo, com a manutenção do peso corporal e da homeostase, sendo conhecido como *GDF15* (*growth/differentiation factor 15*).

Fisiologicamente, atua como proteína pró-apoptótica e citocina protetora de órgãos, sendo comumente expressa e circulante em baixas quantidades. Já em condições patológicas, há um aumento em sua concentração que pode atuar no agravamento de doenças metabólicas e cardiovasculares e na desregulação do gasto energético⁴. Já foi descrito que indivíduos

diagnosticados com obesidade grave apresentam níveis elevados de GDF-15 circulante, o que o sugere como um potencial biomarcador para a doença⁵.

Sua via de sinalização reduz o apetite e, periféricamente, diminui o peso corporal ao ativar genes lipolíticos e termogênicos, sendo o *FNDC5* um candidato a essa regulação⁶⁻⁸. Assim, variantes funcionais no *GDF15* poderiam comprometer o balanço energético e favorecer o ganho de gordura^{9,10}. Com isso, o presente estudo avaliou variantes nos genes *GDF15* e *FNDC5* e seus efeitos na suscetibilidade à obesidade grave e traços relacionados.

MÉTODO

A coorte do estudo apresentou um tamanho amostral de 546 indivíduos entre casos (n=328, IMC $\geq$ 35 kg/m²) e controles eutróficos voluntários (n=218, IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m²) recrutados. Os indivíduos foram recrutados nas dependências do Grupo de Resgate à Autoestima e Cidadania do Obeso do Rio de Janeiro (GRACO - RJ) e do Programa de Obesidade e Cirurgia Bariátrica (PROCIBA) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Os critérios de exclusão foram: (1) gestantes; (2) lactantes; e (3) indivíduos que fazem uso de medicamentos direcionados para ganho ou perda de peso. Anteriormente à coleta de sangue e à avaliação antropométrica, foram realizados o preenchimento de um questionário para a obtenção de dados sociodemográficos, clínicos, antropométricos e pressóricos. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Fundação Oswaldo Cruz (CAAE: 09225113.0.0000/Protocolo nº: 346.634) e do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (CAAE nº 69137623.2.0000.5257). Todos os pacientes foram informados quanto aos objetivos do estudo e só foram incluídos após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Todas as amostras de DNA foram extraídas a partir de células de sangue periférico utilizando o kit QIAamp DNA Blood (Qiagen), de acordo com as orientações do fabricante.

A estratégia de escolha dos polimorfismos para o estudo foi fundamentada na análise do perfil do *GDF15*, obtida a partir do rastreamento por sequenciamento de Sanger da região codificante do gene em 103 indivíduos com obesidade grave, aliada aos dados da literatura científica. De posse destes dados, o polimorfismo *GDF15* rs1058587 (C>G) foi escolhido para a análise, apresentando a frequência do menor alelo (MAF) de 21,8% na amostra sequenciada e prévia associação ao IMC¹⁰. Para o gene *FNDC5*, as variantes rs3480 (A>G) e rs16835198 (G>T) foram selecionadas para as análises. Para a genotipagem das variantes selecionadas pelo método de PCR em tempo real, foram utilizadas as sondas de hidrólise

TaqMan SNP genotyping. As análises de associação dos polimorfismos com o desenvolvimento de obesidade foram realizadas por regressão logística. Já a avaliação da influência dos polimorfismos em parâmetros antropométricos, pressóricos, bioquímicos e marcadores metabólico-inflamatórios foi avaliada por regressão linear.

RESULTADOS

Em relação ao estudo de associação com os indicadores, apenas o polimorfismo *FNDC5* rs3480 apresentou associações significativas. Portadores do genótipo GG exibiram menores níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) ($p = 0,028$) e maiores níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) ($p = 0,024$) comparados a AA e AG, sem correlações para as demais variantes. Além disso, nenhum dos três polimorfismos investigados associou-se ao risco de desenvolvimento da obesidade.

DISCUSSÃO

O polimorfismo *GDF15* rs1058587 está localizado na porção bioativa do peptídeo maduro, porém, mesmo com a substituição de aminoácidos, este não compromete drasticamente a estrutura global da GDF-15. Entretanto, pode influenciar as propriedades bioquímicas locais da molécula. No presente estudo, não foram encontradas influências estatisticamente significativas de nenhuma de suas associações com o desenvolvimento de obesidade e condições associadas. Entretanto, há relatos na literatura que demonstram que a presença da variante leva a níveis séricos elevados de GDF-15 circulante em indivíduos diagnosticados com doenças cardiometabólicas e de base inflamatória, categoria em que a obesidade se insere¹¹.

Embora o polimorfismo *FNDC5* rs16835198 esteja localizado na região intergênica do gene, ainda assim, esse tipo de variante possui o potencial de exercer efeitos sobre a regulação, processamento, estabilidade, tradução e localização do mRNA. Alterações na estabilidade e tradução do gene transcrito podem impactar os níveis proteicos, enquanto as alterações na localização do transcrito podem impactar a função proteica¹². Os resultados gerados a partir da genotipagem deste polimorfismo na coorte estudada, não demonstraram associação estatisticamente significativa com o desenvolvimento da obesidade e fenótipos antropométricos e marcadores inflamatórios e metabólicos.

A variante *FNDC5* rs3480 leva à instabilidade no mRNA e modifica sítios de ligação de microRNAs, induzindo redução da expressão gênica, dos níveis do seu produto, a irisina, e consequentemente, das taxas de termogênese. Hipotetiza-se, portanto, que baixos níveis de irisina circulantes de maneira crônica em função da presença do polimorfismo induzem maior

sensibilidade e afinidade aos receptores de irisina. Esse mecanismo compensatório poderia permitir que a mesma atue de modo a aumentar o gasto energético, em razão do *browning*, favorecendo o consumo de glicose e a sensibilidade à insulina, como proposto por Bostrom e colaboradores em 2012^{6,13}.

Considerando o efeito da instabilidade de mRNA, a irisina que possui atividade anti-inflamatória, em baixos níveis circulantes, não atua de maneira a controlar a inflamação no tecido adiposo, levando à manutenção da inflamação crônica de baixo grau característica da obesidade. Portanto, este microambiente inflamado contribui para o contínuo aumento da expressão de marcadores inflamatórios, como o TNF- α ¹⁴.

É importante ressaltar que ambas hipóteses propostas relacionadas ao mecanismo biológico de atuação da variante *FNDC5* rs3480, se executadas a fim de prová-las, devem ser acompanhadas da mensuração sérica dos níveis de irisina circulante e de estudos funcionais.

CONCLUSÃO

Os achados evidenciam a relevância do polimorfismo *FNDC5* rs3480 na regulação de HbA1c e TNF- α , sustentando a hipótese mecânica de alterações na sinalização crônica da irisina na obesidade grave. Apesar da falta de correlação estatística entre as variantes *GDF15* rs1058587 e *FNDC5* rs16835198 e os desfechos cardiometabólicos, os achados auxiliam na caracterização da coorte. Os resultados indicam que essas alterações genéticas não atuam como moduladoras primárias do quadro clínico avaliado, apontando para uma regulação dependente de fatores extrínsecos ou até mesmo genéticos não avaliados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Obesity and overweight. Accessed August 21, 2026. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. da Fonseca ACP, Bozza PT, Cabello PH. Genetic Profiles in the Obese Population. In: Faintuch J, Faintuch S, eds. *Obesity and Diabetes: Scientific Advances and Best Practice*. Springer International Publishing; 2020:107-125. doi:10.1007/978-3-030-53370-0_8
3. Johnen H, Lin S, Kuffner T, et al. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF- β superfamily cytokine MIC-1. *Nat Med*. 2007;13(11):1333-1340. doi:10.1038/nm1677
4. Assadi A, Zahabi A, Hart RA. GDF15, an update of the physiological and pathological roles it plays: a review. *Pflugers Arch*. 2020;472(11):1535-1546. doi:10.1007/s00424-020-02459-1

5. Xiong Y, Walker K, Min X, et al. Long-acting MIC-1/GDF15 molecules to treat obesity: Evidence from mice to monkeys. *Sci Transl Med*. 2017;9(412):eaan8732. doi:10.1126/scitranslmed.aan8732
6. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1 α -dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-468. doi:10.1038/nature10777
7. Waseem R, Shamsi A, Mohammad T, et al. FNDC5/Irisin: Physiology and Pathophysiology. *Molecules*. 2022;27(3):1118. doi:10.3390/molecules27031118
8. Chrysovergis K, Wang X, Kosak J, et al. NAG-1/GDF-15 prevents obesity by increasing thermogenesis, lipolysis and oxidative metabolism. *Int J Obes*. 2014;38(12):1555-1564. doi:10.1038/ijo.2014.27
9. Li J, Shang G, Chen YJ, et al. Cryo-EM analyses reveal the common mechanism and diversification in the activation of RET by different ligands. *eLife*. 2019;8:e47650. doi:10.7554/eLife.47650
10. Lin W, Xu H, Yuan Q, Zhang S. Integrative Genomic Analysis Predicts Regulatory Role of N6-Methyladenosine-Associated SNPs for Adiposity. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:551. doi:10.3389/fcell.2020.00551
11. Lemmelä S, Wigmore EM, Benner C, et al. Integrated analyses of growth differentiation factor-15 concentration and cardiometabolic diseases in humans. *eLife*. 2022;11:e76272. doi:10.7554/eLife.76272
12. Macintyre G, Jimeno Yepes A, Ong CS, Verspoor K. Associating disease-related genetic variants in intergenic regions to the genes they impact. *PeerJ*. 2014;2:e639. doi:10.7717/peerj.639
13. Metwally M, Bayoumi A, Romero-Gomez M, et al. A polymorphism in the Irisin-encoding gene (FNDC5) associates with hepatic steatosis by differential miRNA binding to the 3'UTR. *J Hepatol*. 2019;70(3):494-500. doi:10.1016/j.jhep.2018.10.021
14. Akhter N, Wilson A, Arefanian H, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Promotes the Expression of TNF- α in THP-1 Cells by Mechanisms Involving ROS/CHOP/HIF-1 α and MAPK/NF- κ B Pathways. *Int J Mol Sci*. 2023;24(20):15186. doi:10.3390/ijms242015186