

Associação Entre Polimorfismo Gln27Glu do Receptor β_2 -Adrenérgico e Hipertensão Arterial Sistêmica em Obesos Mórbidos

Sandra M. Villares
Marcio C. Mancini
Sérgio Gomez
Ana M. Charf
Eliana Frazzatto
Alfredo Halpern

RESUMO

Há alguns relatos na literatura sugerindo associação entre polimorfismos do receptor β_2 -adrenérgico com obesidade e outros com hipertensão arterial. O objetivo do nosso estudo foi estudar a frequência de um polimorfismo do receptor β_2 adrenérgico (Gln27Glu) em pacientes obesos (BMI $48 \pm 8,2\text{kg/m}^2$) e relacioná-lo com hipertensão arterial, e níveis de triglicérides, colesterol, insulina e glicose no sangue. Encontramos associação deste polimorfismo em obesos com hipertensão arterial. (Arq Bras Endocrinol Metab 2000;44/1: 72-80)

Unitermos: Obesidade; Hipertensão arterial; Receptor β -adrenérgico

ABSTRACT

β_2 -adrenergic receptors (β_2 AR) are membrane-bound receptors, which upon binding the endogenous catecholamines epinephrine and norepinephrine signal to the interior of cells via stimulatory guanine nucleotide-binding protein Gs. The sympathetic nervous system activation stimulates energy mobilization and utilization in the adipose tissue that is a favored target for high-energy substrate storage, mobilization and utilization. Adrenergic responsiveness may be altered in obesity and could be an important factor in the pathogenesis and maintenance of obesity state. In the hypertensive state there is physiological and biochemical evidence that β -adrenergic responsiveness is diminished in the face of increased sympathetic tone. Recently, several different polymorphic forms of the human β_2 AR have been identified in general population, including N-terminal substitutions of glutamine (Gln) for glutamic acid (Glu) at position 27. The aim of this study was to investigate the potential interaction between the β_2 AR (Gln27Glu) polymorphism and obesity accumulation and hypertension in morbidly obese subjects. The I α 1 genotypes of β_2 AR were established using RFLP methods in 135 individuals with BMI $48 \pm 8,02\text{kg/m}^2$. The frequency of Gln/Glu was 31.9% and in the homozygous Glu/Glu was 12.6%. No association was found between BMI, weight gain during the past years and the I α 1 genotypes and neither was associated with levels of triglycerides, cholesterol, insulin and glucose. Positive association was found between blood pressure (systolic and diastolic) and presence of polymorphism. The results indicate at the first time that presence of polymorphism 27Glu may provide a mechanism for enhanced vascular reactivity and identify a candidate gene for hypertension in this obesity group. (Arq Bras Endocrinol Metab 2000;44/1: 72-80)

Keywords: Obesity; Arterial hypertension; β -Adrenergic receptor

OBESIDADE É UMA DOENÇA DE PREVALÊNCIA elevada e crescente, tanto em países desenvolvidos (1-3), como em nosso meio (4).

Na última década, a comunidade científica tem procurado estabelecer o papel da genética na etiologia da obesidade humana e de outras doenças complexas que têm componentes ambientais, comportamentais e genéticos. Estuda-se em que extensão os genes herdados têm influência no

Grupo de Obesidade e Doenças Metabólicas do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas e Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP.

risco dessa doença, e como a interação entre os fatores genéticos e os fatores ambientais contribui para o desenvolvimento da doença. Os fatores genéticos podem ser atenuados ou exacerbados por fatores não genéticos, sendo, portanto, o fenótipo obeso, um traço multifatorial estabelecido por uma somatória desses efeitos.

As evidências mais convincentes da transmissão genética da obesidade humana originam-se dos estudos de gêmeos, que distinguem-se pelo fato de o componente ambiental e doméstico ser controlado desde a vida intra-uterina. Nos vários estudos publicados, os quocientes de hereditariedade (qh) têm variado de 0,4 a 0,98 (5-12). Os estudos de famílias comparam a concordância de um fenótipo entre indivíduos aparentados e não aparentados. Há quatro grandes estudos nesta categoria (13-16), com um quociente de correlação com diferentes medidas de adiposidade corporal entre irmãos de aproximadamente 0,3 e pouco menor entre pais e filhos (15). Porém, analisados individualmente, encontramos resultados bastante variáveis entre a transmissão genética do índice de massa corpórea e outras medidas de massa adiposa: nenhuma transmissão genética no *Framingham Heart Study* (13), qh de 0,05 no *Canadian Fitness Study* (14), qh de 0,25 no *Quebec Family Study* (15) (significante) e qh de 0,40 no *Norwegian Family Study* (16) (significante). Os estudos de adoção comparam a concordância do fenótipo entre o adotado e os pais biológicos versus entre o adotado e os pais adotivos (15,17-19), com quociente de hereditariedade calculado significativo de 0,34 (20). Estudos de *linkage* valem-se de modelos matemáticos para estimar a transmissão de uma determinada região gênica ligada à herança de um fenótipo específico, utilizando dados familiares de várias gerações (21-26). É provável que vários genes interajam, exercendo em conjunto efeitos importantes em determinadas famílias. Nos estudos de associação, a frequência de um determinado polimorfismo do DNA é comparada com o fenótipo estudado. Existem inúmeros estudos de associação e *linkage* com resultados positivos com genes candidatos (por exemplo, gene da 3- β hidroxí-esteróide desidrogenase (27), gene da proteína desacopladora mitocondrial (28)), revisados recentemente (49).

Entre os modificadores ambientais, destacam-se os fatores demográficos (como idade (29,30), sexo (31), etnia (32)), os fatores sócio-culturais (como nível educacional (33), nível sócio-econômico (32), estado civil), os fatores biológicos (como paridade (34), climatério (35,36)) e os fatores comportamentais (como nutrição (37,38), estado psicológico (39),

tabagismo (40), consumo de álcool (41), atividade física (42,43)).

A obesidade monogênica humana é bastante rara (por exemplo, deficiência de leptina (44) e inativação do seu receptor (45), síndromes genéticas com manifestações dismórficas associadas como síndrome de Bardet-Biedl (46), síndrome de Prader-Willi (47), síndrome de Alstrom-Hallgren (48).

Variações genéticas podem potencialmente favorecer o desenvolvimento da obesidade afetando possíveis mecanismos homeostáticos (49,50). Dos genes que regulam a taxa metabólica basal, os genes envolvidos na modulação da função catecolaminérgica, e particularmente os genes dos receptores β -adrenérgicos ganharam recentemente considerável atenção, pois apresentam papel central no gasto energético (56). Comparando os indivíduos obesos com os de peso normal, há evidências crescentes que nos obesos estes mecanismos adaptativos do SNS poderiam estar alterados. Poder-se-ia especular que alterações nos receptores adrenérgicos poderiam diminuir a atividade simpática, e consequentemente alterar a lipólise (56).

As catecolaminas iniciam sua ação pela ocupação do adrenoceptor na superfície da célula adiposa. O adipócito humano possui cinco subtipos de receptores adrenérgicos identificados: três β -adrenérgicos (β_1 , β_2 e β_3) (51,52) e dois α -adrenérgicos (α_1 e α_2) (53). Os receptores β -adrenérgicos estimulam a lipólise e os α_2 -adrenérgicos inibem a lipólise (54-56). Estes receptores são membros das super-famílias de receptores com sete domínios transmembranários, três alças intracelulares, três extracelulares, uma porção extracelular N-terminal e uma porção intracelular C-terminal, e são acoplados às proteínas GTP-dependentes (proteínas Gs ou Gi), que estimulam ou inibem a adenil ciclase. A adenil ciclase controla a concentração de adenosina 3',5' monofosfato cíclico (AMPc) que, por sua vez, controla a atividade da lipase hormônio sensível (57) e estimula a lipólise. No indivíduo obeso, qualquer modificação que ocorra na cascata da lipólise pode resultar em alteração da atividade lipolítica e diminuição da lipólise (56), e ter como consequência uma oxidação deficiente dos triglicérides.

Os receptores adrenérgicos β_1 e β_2 apresentam respostas lipolíticas maiores quando comparados com os receptores β_3 -adrenérgicos em adipócitos brancos humanos (52). Defeitos no gene do receptor β_3 -adrenérgico podem levar a resistência a insulina, diabetes mellitus, hipertensão arterial, tendência a taxa metabólica basal baixa e obesidade (58-63). Embora presença de polimorfismo do gene do receptor β_3 -adrenérgico Trp64Arg esteja bem documentada,

alguns autores demonstram influência nas características fenotípicas (58,59,61,62) e outros não (60,63,64). Além disso, estudos funcionais com cultura de adipócitos humanos não demonstraram influência significativa da presença do polimorfismo (65,66).

Foram descritos nove polimorfismos do gene do receptor β_2 -adrenérgico humano, dos quais dois são mais freqüentes (67) e localizam-se na porção N-terminal do receptor (Figura 1) (69): β_2 -AR-16, onde há substituição de arginina (Arg16) por glicina (Gly16) e β_2 -AR-27, onde há substituição de glutamina (Gln27) por ácido glutâmico (Glu27), levando a alteração substancial da função do receptor (68-70).

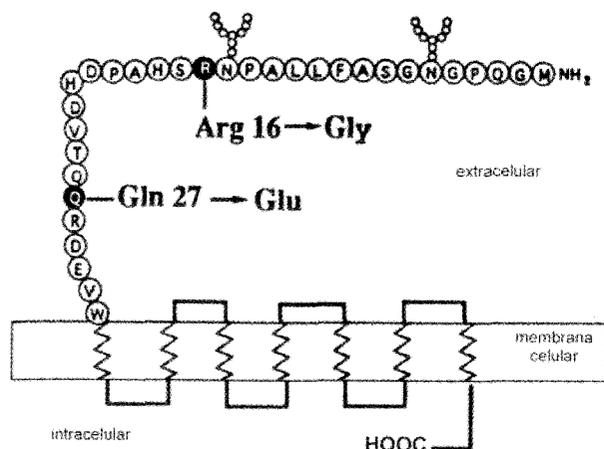


Figura 1: Gene do receptor β_2 -adrenérgico humano

Polimorfismos do receptor β_2 -adrenérgico humano foram estudados em pacientes asmáticos, uma vez que poderiam ser determinantes genéticos de responsividade a tratamento com drogas β_2 -agonistas. Quando comparados com homozigotos para Gly16, os homozigotos para Arg16 apresentavam responsividade 5,3 vezes maior e heterozigotos para β_2 -AR-16 apresentavam responsividade 2,3 vezes maior a albuterol, respectivamente. Não foi encontrada associação entre o polimorfismo β_2 -AR-27 e resposta a albuterol (71). Muito embora nenhuma dessas mutações fosse mais prevalente em asmáticos em relação a pacientes controle, a variante Gly16 aparentemente está associada com formas mais graves de asma (72) e com asma noturna (73).

Recentemente, o grupo de Peter Arner (74) investigou a freqüência dessas mutações em 58 mulheres não obesas e 82 mulheres obesas, usando como ponto de corte o índice de massa corpórea de $27\text{kg}/\text{m}^2$. O polimorfismo Gln27Glu apresentou uma forte associação com obesidade ($p = 0,003$); 24% das

obesas eram portadoras da forma homozigota de Glu27 contra apenas 3% das mulheres não obesas (risco relativo ~ 7 ; odds ratio = 10,4). As mulheres homozigotas para Glu27 tinham uma massa adiposa 20kg maior que o grupo controle e adipócitos maiores. Os heterozigotos não apresentaram associação com obesidade estatisticamente significativa, tampouco os portadores do polimorfismo Arg16Gly. Os achados sugerem que a variabilidade genética do receptor β_2 -adrenérgico pode ser importante para o desenvolvimento de obesidade em mulheres.

O sistema nervoso simpático exerce influência sobre o débito cardíaco, o tônus vascular, a reabsorção renal de sódio e a liberação de renina, podendo estar implicado na responsividade vascular e consequentemente na hipertensão arterial sistêmica (75). Polimorfismos genéticos que alterem a resposta agonista de receptores α -adrenérgicos, levando a vasoconstrição ou atenuem a vasodilatação mediada pelos receptores β_2 -adrenérgicos, podem levar a aumento da resistência periférica total e ser um fator importante na patogênese e manutenção da hipertensão arterial. Foi recentemente documentada a associação de uma variante do receptor β_2 -adrenérgico com hipertensão em indivíduos de origem africana do Caribe (76).

Além disso, genotipagem do locus do receptor β_2 -adrenérgico através de enzimas de restrição disponíveis comercialmente mostrou associação com hipertensão essencial (77) e estudos de *linkage* conduzidos pelo mesmo grupo sugeriram que a sensibilidade sistólica e diastólica a sódio e a pressão arterial de base estão ligadas ao locus do receptor β_2 -adrenérgico (78).

O objetivo do estudo foi determinar qual a influência da presença do polimorfismo Glu27 em diversos aspectos fenotípicos da obesidade em pacientes de ambos os sexos portadores de obesidade mórbida (índice de massa corpórea $\geq 40\text{kg}/\text{m}^2$).

MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes

O grupo de estudo foi constituído por 136 pacientes obesos mórbidos na faixa etária de 15 a 68 anos, em acompanhamento no Ambulatório do Grupo de Obesidade e Doenças Metabólicas do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), não aparentados. Os pacientes foram previamente genotipados e classificados em portadores e não portadores do polimorfismos.

Foram avaliadas as seguintes medidas antropométricas: altura, peso, circunferência abdominal, cir-

cunferência do quadril, e calculados o índice de massa corpórea (IMC, definido como o peso em quilogramas dividido pelo quadrado da altura em metros) e a relação entre a circunferência abdominal e a do quadril (relação cintura-quadril, RCQ). Foi cateterizada veia antecubital para coleta de sangue venoso para determinações de DNA, glicose, insulina, hemoglobina glicosilada e lipídeos (colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicérides), realizados no laboratório de rotina do HC-FMUSP. Os pacientes foram informados detalhadamente sobre o estudo.

Avaliação da Pressão Arterial

A pressão arterial (PA) foi aferida pelo mesmo observador experiente, empregando o método auscultatório e em esfigmomanômetro de coluna de mercúrio. A medida foi realizada três vezes após 5 minutos de repouso na posição sentada. O nível pressórico foi calculado pela média das 3 medidas realizadas. Os casos que apresentaram valores médios de pressão arterial sistólica maiores que 140mmHg e diastólica maiores que 90mmHg, foram classificados como hipertensos.

Avaliação do Peso Corporal

O peso corporal foi aferido em três ocasiões em uma balança Filizola, com os pacientes trajando roupas leves e sem sapatos. A média das três medidas foi considerada o peso dos mesmos.

Análise de Polimorfismos (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP)

I. Extração do DNA

Para a extração do DNA, o sangue foi coletado em tubos contendo EDTA (10mL). O DNA total foi extraído pela técnica de extração sal-clorofórmio a partir de leucócitos de sangue periférico. A quantificação do DNA foi analisada pelo espectrofotômetro (1,0 unidade DO260 = 50 μ g/ml). As amplificações dos segmentos do gene do receptor β_2 -adrenérgico foram realizadas pelo termociclador Perkin-Elmes.

II. Amplificação por PCR do segmento de DNA contendo o codon 27 do receptor β_2 -adrenérgico

Os segmentos amplificados contendo o codon 27 do receptor β_2 -adrenérgico foram realizados em volume de 26 μ l contendo 200 μ g de DNA, 100mM de desoxinucleotídeos (DNTP), tampão 10% (100mM Tris-HCl; 15mM MgCl₂; 500mM KCl; pH 8,3), 10% DMSO, 20pmol de cada "primer", e 1 unidade de Taq DNA polimerase.

O primer senso foi 5'-GGCCCATGACCA-GATCAGCA-3' e o primer reverso foi 5'-GAATGAG-GCTTCCAGGCGTC-3'. A PCR foi iniciada com desnaturação a 94°C por 4 minutos, seguido por 30 ciclos de desnaturação (94°C, 1 minuto), hibridação (63°C, 1 minuto), e extensão (72°C, 1 minuto), com uma extensão final a 72°C por 10 minutos. O produto de PCR apresentou 353pb. O produto amplificado foi digerido a 37°C por 1 hora com 0.4 U de *FTN4*. O produto de digestão foi visualizado em gel de ultra-puro agarose a 2% com tampão *tris-acetate* EDTA (40mM *tris-acetate*, 2mM EDTA) e visualizado em transiluminador ultravioleta após coloração com brometo de etídio. Os fragmentos de produtos de digestão dos tamanhos: 27, 55, 97, e 174pb nos homozigotos Gln27; 27, 55, 97, 174, e 229pb no heterozigoto Gln27Glu27 e 27, 97, e 229pb no homozigoto Glu27.

O kit de extração de DNA foi adquirido da *Gibco*, a enzima *Taq DNA* polimerase foi adquirida da *Pharmacia-Upjohn* (Uppsala, Suécia) e a agarose ultrapura da *BIO-RAD* (Hercules, EUA). As enzimas de restrição *BFTN4* foi adquirida da *New England Biolabs Inc.* (Beverly, EUA) e agarose *Meta-Phor* da *FMC Bio-products* (Rockland, EUA).

RESULTADOS

Entre os 132 pacientes obesos mórbidos estudados, 59 apresentaram polimorfismo do receptor β_2 -adrenérgico, tanto na forma heterozigota (Gln27Gly, n = 42) como na forma homozigota (Glu27, n = 17) (Figura 2). Embora o peso atual dos pacientes sem polimorfismo seja maior que o dos pacientes portadores do polimorfismo (130 \pm 27kg vs. 121 \pm 25kg, p = 0,07), a altura apresentou-se menor no grupo com polimorfismo (158 \pm 0,1cm vs. 168 \pm 0,1cm, p = 0,003). O índice de massa corpórea (IMC) não apresentou diferença significativa (48 \pm 8, 52 \pm 8kg/m², p = 0,74). A pressão arterial sistólica apresentou correlação com o grupo portador de polimorfismo (145 \pm 19 e 133 \pm 22mmHg, p = 0,007), bem como a pressão diastólica (92 \pm 10 e 86 \pm 12mmHg, p = 0,02) (Tabela 1).

Não houve diferença significativa quanto à presença de polimorfismo em relação a raça (p = 0,86). A presença de polimorfismo foi semelhante em homens e mulheres (p = 0,105). Houve associação entre o nível de pressão sistólico e diastólico em pacientes portadores de polimorfismo (Tabela 2).

Os pacientes com obesidade mórbida apresentam níveis elevados de insulina, glicose e colesterol, sem diferença significativa entre portadores e não portadores do polimorfismo.

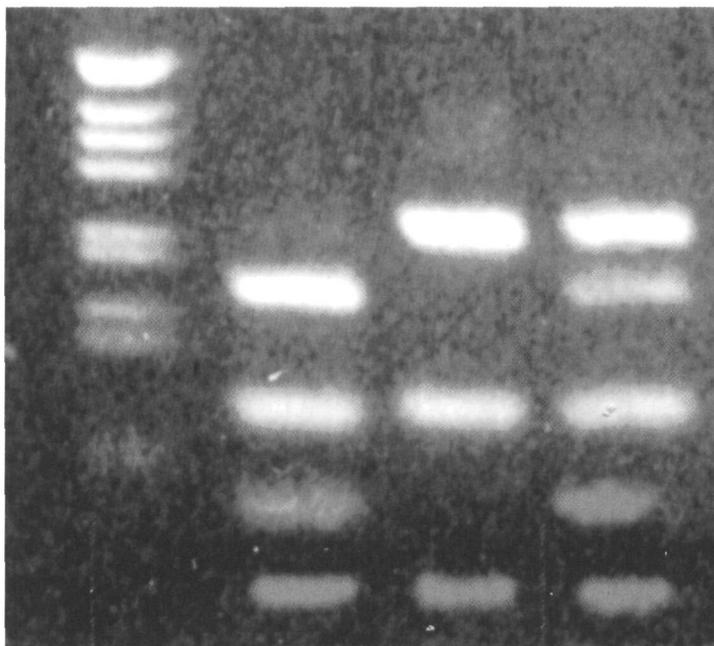


Figura 2: Polimorfismo do receptor β_2 -adrenérgico

Tabela 1. Características clínicas de 132 obesos mórbidos (111 mulheres e 21 homens) de acordo com a presença do polimorfismo Gln27Gly no gene do receptor β_2 -adrenérgico.

	Com polimorfismo Gln27Glu e Glu27	Sem polimorfismo Gln27	P
Sexo (F/M)	53/6	58/15	NS
Idade (anos)	44 ± 12	57 ± 8	0,009
Raça (branca/negra/parda)	32/5/7	37/8/8	NS
Peso (kg)	121 ± 25	130 ± 23	0,007
Estatura (cm)	158 ± 0,1	168 ± 0,1	0,03
IMC (kg/m ²)	48 ± 8	52 ± 8	NS
PA sistólica (mmHg)	145 ± 19	133 ± 22	0,007
PA diastólica (mmHg)	92 ± 10	86 ± 12	0,02
Hipertensos (%)	82	49	0,001
Insulinemia (μUI/ml)	33,9 ± 25,8	42,1 ± 22,7	NS
Glicemia (mg/dl)	117 ± 64	114 ± 49	NS
Colesterolemia (mg/dl)	213 ± 44	215 ± 43	NS
Trigliceridemia (mg/dl)	156 ± 96	153 ± 58	NS
Hemoglobina glicosilada (%)	7,66 ± 2,6	7,61 ± 2,4	NS

Tabela 2. Presença de hipertensão em pacientes com e sem o polimorfismo.

	Hipertensos	Normotensos
Com polimorfismo Gln27Glu e Glu27	32 (82,0%)	7 (19,9%)
Sem polimorfismo Gln27	25 (49,2%)	26 (50,9%)

Há associação de hipertensão e polimorfismo β_2 -AR-27 ($p = 0,0001$). As pessoas que apresentam polimorfismo do receptor β_2 -adrenérgico possuem um risco 4,7 vezes (1,2-2,7, $p = 0,0019$) maior de serem hipertensos do que os que não apresentam.

DISCUSSÃO

O desenvolvimento de obesidade, assim como de hipertensão arterial, envolve interações complexas que sofrem influências ambientais e genéticas, tornando a pesquisa de genes mais difícil. A pesquisa de genes pode ser facilitada pela investigação de fenótipos relacionados a hipertensão que podem levar à identificação de uma população relativamente homogênea genética e patofisiologicamente. Nós estudamos o genótipo do receptor β_2 -adrenérgico no fenótipo obesidade mórbida.

A associação entre hipertensão e obesidade está extensamente documentada. Estudos cruzados seccionais demonstram que indivíduos obesos têm um risco maior de hipertensão arterial que indivíduos magros (79). Um estudo realizado na população da cidade de Bergen, na Noruega, demonstrou que 10kg de aumento no peso corpóreo associa-se com uma elevação de 3 e 2mmHg na pressão sistólica e diastólica, respectivamente (80), elevação confirmada no estudo de Tecumseh (81). O Segundo Exame de Levantamento da Saúde Nacional (NHANES II), um estudo conduzido de 1976 a 1980 em uma amostra representativa da população norte-americana, documentou que a prevalência de hipertensão entre adultos com peso excessivo pode ser 2,9 vezes maior que a de adultos de peso normal (82). O risco de hipertensão em obesos na faixa etária de 20 a 44 anos é 5,6 vezes maior que em pessoas de 45 a 74 anos (83). Nas sociedades ocidentais, cerca de um terço dos casos de hipertensão são causados pela obesidade, e em homens abaixo de 45 anos, cerca de 60% dos casos (84). No estudo prospectivo longitudinal de residentes de Framingham, notou-se associação entre aumento de peso e elevação da pressão arterial. Em homens, para cada aumento de 10% no peso, houve uma elevação da pressão arterial de 6,5mmHg. Ganhos de peso da ordem de 15% causaram 18% de elevação da pressão arterial sistólica. Elevações do peso em 20% associaram-se a um aumento da incidência de hipertensão 8 vezes maior (85,86). Os receptores β_2 -adrenérgicos são implicados na hipertensão em estudos que sugerem um relaxamento vascular deficiente β -mediado (87).

Nossos resultados demonstram associação do polimorfismo Gln27Glu a hipertensão arterial em

pacientes com obesidade mórbida, especula-se que a presença do polimorfismo possa alterar o relaxamento vascular e possa contribuir para a instalação da hipertensão em pacientes obesos.

REFERÊNCIAS

1. WHO MONICA Project: Risk Factors. *Int J Epidemiol* 1989;18(Suppl. 1):S46-S55.
2. Seidell JC, Obesity in Europe - scaling na epidemic. *Int J Obesity* 1995;19(Suppl. 3):S1-S4.
3. Kuczmarski RJ, Flegal KM, Campbell SM, Johnson CL. Increasing prevalence of overweight among US adults. The National Health and Nutrition Examination Surveys 1960 to 1991. *JAMA* 1994;272:205-11.
4. Sichieri R, Coutinho DC, Leão MM, Recine E, Everhart JE. High temporal, geographic and income variation in body mass index among adults in Brazil. *Am J Public Health* 1994;84:793-8.
5. Bordutha JN, Mosteller M, Hewitt JK, et al. Genetic analysis of anthropometric measures in 11-year-old twins: The Medical College of Virginia Twin Study. *Pediatr Res* 1990;28:1-7.
6. Borjeson M. The etiology of obesity in children. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:279-85.
7. Bouchard C, Savard R, Després JP, et al. Body composition in adopted and biological siblings. *Hum Biol* 1985;57:61-7.
8. Bouchard C, Pérusse L. Heredity and body fat. *Annu Ver Nutr* 1988;8:259.
9. Brook CGD, Huntley RMC, Slack J. Influence of heredity and environment in determination of skinfold thickness in children. *Br Med J* 1975;28:719-25.
10. Fabsitz RR, Carmelli D, Hewitt JK. Evidence for independent genetic influences on obesity in middle age. *Int J Obes* 1992;16:657-66.
11. Hawk LJ, Brook CGD. Family resemblances in height, weight, and body fatness. *Arch Dis Child* 1979;54:877-84.
12. Stunkard AJ, Foch TT, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA* 1986;256:51-8.
13. Heller R, Garrison RJ, Havlik RJ, et al. Family resemblances in height and relative weight in the Framingham Heart Study. *Int J Obes* 1984;8:399-408.
14. Pérusse L, Leblanc C, Bouchard C. Inter-generation transmission of physical fitness in the Canadian population. *Can J Sport Sci* 1988;13:8-18.
15. Bouchard C, Pérusse L, Leblanc C, et al. Inheritance of the amount and distribution of body fat. *Int J Obes* 1988;12:205-12.
16. Tambs K, Moum T, Eaves L, et al. Genetic and environmental contributions to the variance of the body mass index in a Norwegian sample of first and second-degree relatives. *Am J Hum Biol* 1991;3:257-66.
17. Biron P, Mongeau JG, Bertrand D. Familial resemblance of body weight and weight/height in 374 homes with

- adopted children. **J Pediatr** 1977;91:555-62.
18. Price RA, Cadoret RJ, Stunkard AJ, et al. Genetic contributions to human fatness: An adoption study. **Am Psychiatry** 1987;144:1003-9.
19. Stunkard AJ, Sorenson TI, Hanis C, et al. An adoption study of human obesity. **N Engl J Med** 1986;314:193-8.
20. Vogler GP, Sorenson TI, Stunkard AJ, et al. Influence of genes and shared family environment on adult body mass index assessed in an adoption study by a comprehensive path model. **Int J Obesity** 1995;19:40-7.
21. Borecki IB, Bonney GE, Rice T, et al. Influence of genotype-dependent effects of covariates on the outcome of segregation analysis of the body mass index. **Am J Hum Genet** 1993;53:676-83.
22. Moll PP, Burns TL, Lauer RM. The genetic and environmental sources of body mass index variability: The Muscatine ponderosity family study. **Am J Hum Genet** 1991;49:1243-50.
23. Price RA, Ness R, Laskarzewski P. Common major gene inheritance of extreme overweight. **Hum Biol** 1990;62:747-53.
24. Province MA, Arnavqvist P, Keller J, et al. Strong evidence for a major gene for obesity in the large, unselected, total Community Health Study of Tecumseh. **Am J Hum Genet** 1990;47:A143, Supplement.
25. Rao DC, MacLean CJ, Morton NE, et al. Analysis of family resemblance. V. Height and weight in Northeastern Brazil. **Am J Hum Genet** 1975;27:509-15.
26. Rice T, Borecki IB, Bouchard C, et al. Segregation analysis of fat mass and other body composition measures derived from underwater weighing. **Am J Hum Genet** 1993;52:967-73.
27. Vohl MC, Dionne FT, Pérusse L, Dériaz O, Chagnon M, Boucguard C. Relation between Bg11I polymorphism in 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene and adipose tissue distribution in humans. **Obesity Res** 1994;2:444-9.
28. Fumeron T, Durack-Bown I, Betoulle D, et al. Polymorphisms of uncoupling protein (UCP) and β_3 -adrenoreceptor genes in obese people submitted to a low calorie diet. **Int J Obesity** 1997;20:1051-4.
29. Mossberg HE. Obesity in children: a clinical prognostical investigation. **Acta Paediatr** 1948;35:1-22.
30. Wolff OH. Obesity in childhood. A study of birth weight, the height, and the onset of puberty. **Q J Med** 1955;24:109-23.
31. Vague J. La différenciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité. **Presse Méd** 1947;30:339.
32. Van Itallie TB. Health implications of overweight and obesity in the United States. The problem of obesity. **Ann Intern Med** 1985;103(6 pt 2):983-8.
33. Goldblatt PB, Moore ME, Stunkard AJ. Social factors in obesity. **JAMA** 1965;192:1039-44.
34. McKeown T, Record RG. The influence of reproduction on body weight in women. **J Endocrinol** 1957;15:393-409.
35. Wing RR, Matthews K, Kuller L, Meilahn EN, Plantinga PL. Weight gain at the time of menopause. **Arch Intern Med** 1990;151:97-103.
36. Ley C, Lees B, Stevenson J. Sex- and menopause-associated changes in body fat distribution. **Am J Clin Nutr** 1992;55:950-4.
37. Schemmel R, Mickelson O, Motawi P. Conversion of dietary to body energy in rats as affected by strains, sex and ration. **J Nutr** 1972;102:1187-97.
38. Rothwell NJ, Stock MJ. The development of obesity in animals: The role of dietary factors. **Clin Endocrinol Metab** 1984;13:437-63.
39. Maiman LA, Wang VL, Becker MH, et al. Attitudes toward obesity and the obese among professionals. **J Am Diet Ass** 1979;74:331-6.
40. Dallosso HM, James WPT. The role of smoking in the regulation of energy balance. **Int J Obesity** 1984;8:365-70.
41. Colditz GA, Giovannucci E, Rimm EB. Alcohol intake in relation to diet and obesity in women and men. **Am J Clin Nutr** 1991;54:47-8.
42. Chirico AM, Stunkard A. Physical activity and human obesity. **N Engl J Med** 1960;263:935-40.
43. Bullen BA, Mayer J. Physical activity of obese and non-obese adolescent girls appraised by motion pictures sampling. **Am J Clin Nutr** 1964;14:211-23.
44. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al. Congenital leptin deficiency is associated with early-onset obesity in humans. **Nature** 1997;387:903-8.
45. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. **Nature** 1998;392:398-401.
46. Schachat AP, Maumenee IH. Bardet-Biedl syndrome and related disorders. **Arch Ophthalmol** 1980;100:285-8.
47. Bray GA, Dahms WT, Swerdloff RS, et al. The Prader-Willi syndrome: a study of 40 patients and a review of the literature. **Medicine** 1983;62:59-80.
48. Goldstein JL, Fialkow PJ. The Alstrom syndrome: report of three cases with further delineation of the clinical, pathophysiological, and genetic aspects of the disorder. **Medicine** 1973;52:53-71.
49. Chagnon YC, Pérusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: The 1997 update. **Obesity Res** 1998;6:76-92.
50. Bouchard C, Pérusse L. Current status of the human obesity gene map. **Obesity Res** 1996;4:81-90.
51. Coppack SW, Jensen MD, Miles JM. In vivo regulation of lipolysis in humans. **J Lipid Res** 1994;35:177-83.
52. Kreif S, Lönnqvist F, Raimbault S, et al. Tissue distribution of β_3 -adrenoreceptor mRNA in man. **J Clin Invest** 1993;91:344-8.
53. Lafontan M, Berlan M, Galitzky J, et al. Alpha-2 adrenoreceptors in lipolysis: α_2 antagonists and lipid mobilizing strategies. **Am J Clin Nutr** 1992;55:219S.
54. Barbe P, Millet L, Galitzki J, Lafontan M, Berlan M. In situ assessment of the role of beta1, beta2, and beta3-adrenoreceptors in the control of lipolysis and nutritive blood flow in human subcutaneous adipose tissue. **Br J Pharmacol** 1996;117:907-13.

55. Enochsson S, Shimizu M, Lönnqvist F, Nordenström J, Arner P. Demonstration of an *in vivo* functional β_3 -adrenoceptor in man. **J Clin Invest** 1995;95:2239-45.
56. Lafontan M, Berlan M. Fat cell adrenergic receptor and the control of white and brown fat cell function. **J Lipid Res** 1993;34:1057-91.
57. Coppack SW, Jensen MD, Miles JM. In vivo regulation of lipolysis in humans. **J Lipid Res** 1994;35:177-93.
58. Walston J, Silver K, Bogardus C, Knowler W, Celi F, Austin S, et al. Time of onset of non-insulin dependent diabetes mellitus and genetic variation in the β_3 -adrenoceptor gene. **N Engl J Med** 1995;333:343-7.
59. Widén E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner AR, Groop LC. Association of a polymorphism in the β_3 -adrenoceptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. **N Engl J Med** 1995;333:348-51.
60. Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E, Takegawa K, Nakagawa Y, Hamada Y, et al. Association of Trp64Arg mutation of the β_3 -adrenoceptor gene with NIDDM and body weight gain. **Diabetologia** 1996;39:349-52.
61. Clement K, Vaisse C, Manning B, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, et al. Genetic variation in the β_3 -adrenoceptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. **N Engl J Med** 1995;333:352-4.
62. Mitchell BD, Blangero J, Comuzzie AG, et al. A paired sibling analysis of the beta-3 adrenoceptor gene and obesity in Mexican Americans. **J Clin Invest** 1998;101:584-7.
63. Sipiläinen R, Uusitupa M, Heikkinen S, Rissanen A, Laakso M. Polymorphism of the β_3 -adrenoceptor gene affects basal metabolic rate in obese Finns. **Diabetes** 1997;46:77-80.
64. Gagnon J, Mauriege P, Roy S, Sjöström D, Chagnon YC, Dionne FT, et al. The Trp64Arg mutation of the β_3 -adrenoceptor gene has no effect on obesity phenotype in the Quebec family study and Swedish obese subjects cohort. **J Clin Invest** 1996;98:2086-93.
65. Li LS, Lönnqvist F, Luthman H, Arner P. Phenotypic characterization of the Trp64Arg polymorphism in the beta3-adrenoceptor gene in normal weight and obese subjects. **Diabetologia** 1996;39:857-60.
66. Candelore MR, Deng L, Tota LM, Kelly LJ, Cascieri MA, Strader CD. Pharmacological characterization of a recently described human beta 3-adrenoceptor mutant. **Endocrinology** 1996;137:2638-41.
67. Reihnsaus E, Innis M, McIntyre N, Liggett SB. Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenoceptor in normal and asthmatic subjects. **Am J Respir Cell Mol Biol** 1993;8:334-49.
68. Green SA, Turki J, Hall IP, Liggett SB. Implications of genetic variability of human β_2 -adrenoceptor structure. **Pulm Pharmacol** 1995;8:1-10.
69. Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of human β_2 -adrenoceptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. **Biochemistry**. 1994;33:9414-9.
70. Green SA, Cole G, Jacinto M, Innis M, Liggett SB. A polymorphism of the human β_2 -adrenoceptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. **J Biol Chem** 1993;268:23116-21.
71. Martinez FD, Graves PE, Baldini M, et al. Association between genetic polymorphisms of the β_2 -adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. **J Clin Invest** 1997;100:3184-8.
72. Liggett SB. Genetics of β_2 -adrenoceptor variants in asthma. **Clin Exp Allergy** 1995;25:89-94.
73. Turki J, Pak J, Green SA, Martin RJ, Liggett SB. Genetic polymorphisms of the β_2 -adrenoceptor in nocturnal and non-nocturnal asthma. **J Clin Invest** 1995;95:1635-41.
74. Large V, Hellström L, Reynisdottir S, Lönnqvist F, Eriksson P, Lannfelt L, et al. Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. **J Clin Invest** 1997;100:3005-13.
75. Victor RG, Mark AL. The sympathetic nervous system in human hypertension. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. **Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management**. New York, NY: Raven Press; 1995:863-78.
76. Kotanko P, Binder A, Tasker J, et al. Essential hypertension in African Caribbean associates with a variant of the β_2 -adrenoceptor. **Hypertension** 1995;30:773-6.
77. Svetkey LP, Timmons PZ, Osemwegie E, et al. Association of hypertension with β_2 - and $\alpha_{2C}10$ -adrenoceptor genotype. **Hypertension** 1996;27:1210-5.
78. Svetkey LP, Chen Y-T, McKeown SP, et al. Preliminary evidence of linkage of salt sensitivity in Black Americans at the with β_2 -adrenoceptor locus. **Hypertension** 1997;29:918-22.
79. Stamler R, Stamler J, Riedlinger WF, et al. Weight and blood pressure. Findings in hypertension screening of 1 million Americans. **JAMA** 1978;240:1607-10.
80. Boe J, Humerfeit S, Wedervang G. The blood pressure in a population: blood pressure readings and height and weight determinations in the adult population of the city of Bergen. **Acta Med Scand** 1957;157(Suppl.321):1-336.
81. Epstein FH, Francis T, Hayner NS, et al. Prevalence of chronic diseases and distribution of selected physiologic variables in a total community. Tecumseh, Michigan. **Am J Epidemiol** 1965;81:307-22.
82. Van Itallie TB. Health implications of overweight and obesity in the United States. **Ann Intern Med** 1985;103:983-8.
83. Burton BT, Foster WR, Hirsch J, Van Itallie TB. Health implications of obesity: na NIH Consensus Development Conference. **Int J Obes** 1985;9:155-70.
84. MacMabon SW, Blakett RB, Macdonald GJ, Hall W. Obesity, alcohol consumption and blood pressure in Australian men and women. The National Heart Foundation of Australia Risk Factor Prevalence Study. **J Hypertens** 1984;12:85-91.
85. Kannel WB, Brand N, Skinner JJ Jr, et al. The relation of adiposity to blood pressure and development of hyper-

- tension. The Framingham Study. **Ann Intern Med** 1967;67:48-59.
86. Kannel WB, Gordon T, Offutt D. Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study. **Ann Intern Med** 1969;71:89-105.
87. Feldman RD. Beta-adrenergic receptor alterations in Hypertension: physiological and molecular correlates. **Can J Physiol Pharmacol** 1987;65:1666-72.

Endereço para correspondência:

Sandra Mara Ferreira Villares
Rua Pedro Pomponazzi, 487 - apto 91
Chacara Klobim
04115-000 - São Paulo, SP
e-mail: smvillar@usp.br