

Sylvia Maria Affonso da Silva

**Análise genética de fatores associados à massa muscular no
estudo populacional EPISONO: uma avaliação transversal**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

São Paulo
2022

Sylvia Maria Affonso da Silva

**Análise genética de fatores associados à massa muscular no
estudo populacional EPISONO: uma avaliação transversal**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina – para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vânia D’Almeida

Coorientador: Dr. Ronaldo Delmonte Piovezan

São Paulo

2022

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Antonio Rubino de Azevedo,
Campus São Paulo da Universidade Federal de São Paulo, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

da Silva, Sylvia Maria Affonso

Análise genética de fatores associados à massa muscular no estudo
populacional EPISONO: uma avaliação transversal

/ Sylvia Maria Affonso da Silva. - São Paulo, 2022.

XXI, 100f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo, Escola
Paulista de Enfermagem. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia.

Título em inglês: Genetic analysis of factors associated with muscle
mass in the EPISONO population study: a cross-sectional evaluation.

1. índice de massa muscular apendicular. 2. biomarcadores genéticos.
3. envelhecimento. 4. polimorfismo. 5. perda de massa muscular.

Sylvia Maria Affonso da Silva

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO ESCOLA PAULISTA DE
MEDICINA**

DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGIA

Chefe do Departamento: Prof^a. Dr^a. Claudia Berlim de Mello

Coordenador do Programa de Pós-graduação: Prof. Dr. Carlos Eduardo Neves
Girardi

Sylvia Maria Affonso da Silva

**Análise genética de fatores associados à massa muscular no
estudo populacional EPISONO: uma avaliação transversal**

Presidente da banca:

Prof^a. Dr^a. Vânia D'Almeida

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Mônico Neto

Prof^a. Dr^a. Camila Maria de Melo

Prof^a. Dr^a. Ana Beatriz Alvarez Perez

Suplente:

Prof. Dr. Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos

Este estudo foi desenvolvido na seguinte instituição:

Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM)

Departamento de Psicobiologia

Programa de Pós-graduação em Psicobiologia

Área de Concentração Bases Celulares e Moleculares do Comportamento

Auxílio financeiro

Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (AFIP)

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)



DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação à Prof^a Dr^a Alice
Teixeira Ferreira (*in memorian*) por todo o
suporte desde minha iniciação científica. A cada
conversa, a cada aula de ginástica, um
aprendizado novo. A Ciência sempre esteve
presente em sua vida – incluindo enquanto
treinava na atlética e lia a Nature ou a Science -
e assim ela me inspirou a ver Ciência na vida e a
beleza na vida acadêmica.

AGRADECIMENTOS



Gostaria de expressar minha gratidão e apreço a quem contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho, afinal não caminhamos sós. Muito obrigada!

À minha família: minha mãe Dolores, meu pai Augusto, meu irmão Flávio e minha sobrinha Camille. Cada um, a sua maneira, contribuiu para meu equilíbrio emocional e psicológico. Amo vocês!

Agradeço à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Vania D’Almeida, por ser um exemplo de coragem e força, pessoal e profissional. Sua confiança no desenvolvimento desse trabalho, com as adversidades e desafios passados durante o período, foram imprescindíveis para sua realização de forma equânime.

Ao coorientador, Dr. Ronaldo Piovezan por me ajudar com o desenvolvimento da variável de desfecho. Agradeço a confiança para a execução deste trabalho.

À Priscila Farias Tempaku, minha professora de genética, de estatística, de paciência e de resiliência. Com seu jeito sério e focado, sempre me ajudou a buscar as melhores soluções, base na Ciência e evitando conflitos. De cafés à primes, fizemos muitas coisas juntas. Levo comigo seu exemplo e inspiração. Obrigada!

Ao Gabriel Andrade Alves, meu eterno editor de textos e companheiro de shows e ideias comunicativas. Exigente como deve ser um bom comunicador.

Ao Danilo Micali, companheiro de viagens, exposições, museus e outfits. Um ser com todos os adjetivos, mas sem rótulos.

À agência de inovação tecnológica e social (**agits**). Uma equipe dedicada e que compreendeu minhas ausências nos momentos mais críticos: Gorete, com sua organização e Aline com seu apoio e leveza ajudaram para que este trabalho fosse finalizado. Ao Paulo e ao Marcos pelo apoio, compreensão e orientação. São exemplos de liderança e motivação no mundo acadêmico e da inovação.

Ao esquadrão **agits**, equipe multidisciplinar que fez parte do meu processo de amadurecimento profissional. Os ensinamentos e reuniões virtuais foram diárias e levo vocês comigo: Dani, Ricardo, Paulinha, César, Gui Crusco, Simeão e Ariel.

Aos servidores e servidoras, do Departamento de Psicobiologia, em especial à Laura Costa, Sueli Sugama, Diva Lima, Joyce Yamamoto e Fernanda Inoue por todo apoio e pelas trocas em um período tão difícil em nossas vidas.

Às mulheres e manas que me ajudaram nesse processo: Flavia Kolchraiber, Maria Apache, Marcela, Rafa, Kel, Lu Castro, Lidiane, Gabi de Brelàz, Ana Carol Silva, Tamara Russell, Célia Maria de Araújo e tantas outras que compartilharam e ensinaram resiliência, afetividade e autocuidado.

Aos amigos de vida e de sangha Andy Camata, Esper Cavalheiro, Fer Atique, George Viana, Jerry Mayers, Cassio Giovani, Ronaldo Chistofolletti, Ronaldo Thomatieli pelo companheirismo constante.

À Universidade Federal de São Paulo, por permitir minha formação no Mestrado, e ao Departamento de Psicobiologia por permitir que esse projeto acontecesse. Agradeço à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia em nome do Prof. Dr. Carlos Eduardo Girardi, um ser leve de conviver e trabalhar.

Aos professores e professoras que fazem parte da minha banca de defesa, pelo aceite do convite e por contribuírem para minha formação. Agradeço desde já os comentários, críticas e sugestões.

Às agências de fomento que possibilitaram a realização deste projeto, em especial à Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.



SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	vi
AGRADECIMENTOS	vii
SUMÁRIO	xi
LISTAS	xiii
RESUMO	xvii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Envelhecimento</i>	2
1.2 <i>Alterações na composição corporal com o envelhecimento</i>	3
1.3 <i>Individualidade genômica em estudos populacionais</i>	5
1.4 <i>Fatores genéticos associados ao envelhecimento</i>	8
1.5 <i>Fatores associados a doenças no envelhecimento</i>	10
2 HIPÓTESE	13
3 JUSTIFICATIVA	15
4 OBJETIVOS	17
4.1 <i>Objetivo geral</i>	18
4.2 <i>Objetivos específicos</i>	18
5 MATERIAIS E MÉTODOS	19
5.1 <i>Amostra utilizada</i>	20
5.2 <i>Variáveis avaliadas</i>	21
5.3 <i>Avaliação da massa muscular apendicular</i>	22
5.4 <i>Genotipagem de polimorfismos em larga escala</i>	23
5.5 <i>Análise estatística</i>	25
6 RESULTADOS	26
6.1 <i>Caracterização da amostra</i>	27
6.2 <i>Avaliação genética: etnia e polimorfismos</i>	31
7 DISCUSSÃO	37
7.1 <i>Perda de massa muscular como preditivo para sarcopenia</i>	38
7.2 <i>Genética da perda de massa muscular</i>	39
7.3 <i>Quando a perda de massa muscular acontece</i>	43
7.4 <i>Composição corporal, marcadores inflamatórios e a perda de massa muscular</i>	46
7.5 <i>Aplicabilidade dos resultados</i>	48
7.6 <i>Forças e limitações</i>	48
8 CONCLUSÕES	50
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	62



LISTAS

Lista de Figuras

Figura 1 Diagrama esquemático de fatores que influenciam diretamente na musculatura esquelética. Alterações genéticas e processos inflamatórios são intrínsecos ao indivíduo e de seu estilo de vida.....	12
Figura 2 Avaliações e medidas realizadas no momento basal (2007) e no estudo de seguimento (2015).....	21
Figura 3 Equação usada para obtenção da variável de desfecho do trabalho: índice de massa muscular apendicular (IMMA), calculado a partir da somatória das massas musculares esquelética apendicular (de braços e pernas) de cada indivíduo, dividido pelo índice de massa corporal (IMC).....	23
Figura 4 Associação entre índice de massa muscular apendicular (IMMA) e quantidade de músculo no indivíduo com o risco de desenvolvimento de sarcopenia. Na parte superior, as setas em roxo, indicam que quanto maior o IMMA, maior é a quantidade de músculo, portanto, o risco de desenvolvimento de sarcopenia é menor. Na parte inferior, as setas em rosa, indicam que o baixo IMMA é devido à menor quantidade de músculo, o que, conseqüentemente se associa a maior risco de desenvolvimento da sarcopenia.....	39
Figura 5 Diagrama que sintetiza fatores que influenciam na sarcopenia associada ao envelhecimento.....	47

Lista de Tabelas

Tabela 1 Análise descritiva dos dados sociodemográficos incluindo a porcentagem de frequência de participantes do estudo de seguimento do EPISONO.....	28
Tabela 2a Análise descritiva da avaliação antropométrica, incluindo intervalos mínimo e máximo, de participantes do estudo de seguimento do EPISONO.....	29
Tabela 2b Análise descritiva da avaliação clínica, incluindo a porcentagem de frequência, de participantes do estudo de seguimento do EPISONO.....	29
Tabela 3 Nível genômico de associações significativas e sugestivas com índice de massa muscular apendicular (IMMA)	33
Tabela 4 Frequências genotípicas de acordo com o <i>background</i> genético na avaliação basal da coorte EPISONO.....	34
Tabela 5 Frequência de sexo e etnia genética de acordo com faixas etárias.....	35
Tabela 6 Frequência genotípica dos SNPs associados ao IMMA de acordo com faixas etárias.....	36

Lista de Abreviaturas e Siglas

- ACTN3** – *alfa-actina 3*
- BIA** – bioimpedância elétrica
- CCEB** – Critério de Classificação Econômica Brasil
- ELSI** – Estudo Longitudinal da Saúde dos Idosos Brasileiros
- EPISONO** – Estudo Epidemiológico sobre o Sono na cidade de São Paulo
- EWGSOP** – European Working Group on Sarcopenia in Older People
- FMN2** – *formin2*
- FNIH** - Foundation for the National Institutes of Health
- FTO** – *gene alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase*
- GIMAP 1** – *GTPase, IMAP family member 1*
- GLYAT** – *glycine-N-acyltransferase*
- GREM1** – *gremlin 1*
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
- IGF1** – fator de crescimento derivado de insulina 1
- IL-6** – Interleucina 6
- IL-10** – Interleucina 10
- IMC** – índice de massa corporal
- IMMA** – índice de massa muscular apendicular
- IPAQ** – Questionário Internacional de Atividade Física
- LINC02611** – *long intergenic non-protein coding RNA 2611*
- LOC105375179 e LOC105377673** – *uncharacterized LOC105375179/LOC105377673*
- MECOM** - *MDS1 and EVI1 complex locus*
- MMEA** – massa muscular esquelética apendicular
- OMS** – Organização Mundial de Saúde
- PAD** – pressão arterial diastólica
- PAS** – pressão arterial sistólica
- PRDM16** – *gene PR/SET domain 16*
- PRR12** – *proline rich 12*
- PTP** – proteína tirosina fosfatase
- PTPN11** – *protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11*
- SERHL** – *pseudogene serine hydrolase like*
- SLC25A24** – *gene solute carrier family 25 member 24*
- SNP** – single nucleotide polymorphism (polimorfismo de nucleotídeo simples)
- SPATA5** – *gene spermatogenesis associated 5*
- TRHR** – thyrotropin releasing hormone receptor
- VUS** – variant of uncertain significance - variantes de significado incerto



RESUMO

Resumo

À medida que a expectativa de vida das pessoas aumenta, a população idosa demanda atenção e cuidados para mantê-la saudável e autônoma. Dentre as alterações que ocorrem com o processo de envelhecimento, o índice de massa apendicular (IMMA) é o que diminui de forma mais acentuada e está associado às características antropométricas, desempenho muscular e autonomia de movimento da pessoa idosa. O *background* genético influencia nestes aspectos, especialmente com relação à função e performance do músculo. Por esta razão, nosso objetivo foi avaliar biomarcadores genéticos associados ao IMMA, calculado pela soma da massa muscular de braços e pernas, a partir da bioimpedância elétrica em participantes do estudo de seguimento do EPISONO, realizado em 2015. O EPISONO é um estudo de coorte longitudinal realizado na cidade de São Paulo, no qual avaliamos, dados de 714 participantes – reconvocados a partir de uma amostra representativa avaliada em 2007 – sem restrição de sexo e idade; e utilizamos o IMMA como variável linear de desfecho. Após ajustar os dados para idade e sexo, encontramos 12 polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) significativamente associados ao índice de massa muscular apendicular. Entre eles, rs9928094 e rs9930333, ambos localizados no gene *FTO* (*alpha-ketoglutarate-dependent-dioxygenase*) relacionado à obesidade e ganho de gordura e o rs16839632, localizado no gene *FMN2* (*formin2*), responsável pela organização da actina no citoesqueleto e polaridade celular. Esses SNPs merecem atenção, pois suas funções influenciam diretamente no arranjo e função do músculo no nível celular. A avaliação da perda de massa muscular pode ser usada para estimar o risco de desenvolvimento da sarcopenia e a avaliação de biomarcadores, combinada com medidas antropométricas, pode trazer nova compreensão das condições dos pacientes e permitir um diagnóstico precoce e melhor prognóstico.

Palavras-chaves: índice de massa muscular apendicular, biomarcadores genéticos, envelhecimento, polimorfismo, perda de massa muscular.

Abstract

As life expectancy increases, the elderly population demands attention and care to keep itself healthy and autonomous. More studies on this issue are necessary. Among the changes that occur with the aging process, the appendicular mass index (ALMI) is the one that decreases more markedly. The ALMI is calculated by the sum of arm and leg muscle mass, from electrical bioimpedance. Importantly, the ALMI is associated with anthropometric characteristics, muscle performance, and motor and activity autonomy in the elderly. The genetic background influences these aspects, especially with respect to muscle function and performance. For this reason, our aim was to evaluate genetic biomarkers associated with ALMI, in participants of the EPISONO follow-up study conducted in 2015. EPISONO is a longitudinal cohort study, in which we cross-sectionally evaluated data from 714 participants and ALMI was used as a linear outcome variable. After adjusting for age and sex, we found 12 single nucleotide polymorphisms (SNPs) significantly associated with loss of appendicular muscle mass. These included rs9928094 and rs9930333, both located in the *FTO* (*alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase*) gene related to obesity and fat gain and rs16839632, located in the *FMN2* (*formin2*) gene, responsible for the arrangement of actin in the cytoskeleton and cell polarity. These SNPs deserve special attention, because their functions directly influence the constitution and function of muscle at the cellular level. The assessment of muscle mass loss can be used to estimate the risk of developing sarcopenia. In addition, the evaluation of biomarkers, combined with anthropometric measurements, can bring better understanding of the patients' conditions, prevent complications in muscle performance, and allow a better prognosis.

Keywords: appendicular muscle mass index; genetic biomarkers; elderly; polymorphism, muscle loss

1 INTRODUÇÃO

1.1 Envelhecimento

Em todo o mundo observa-se a tendência de um aumento na expectativa de vida e, conseqüentemente, envelhecimento da população. A Organização Mundial da Saúde estima que a população acima de 60 anos seja de dois bilhões de pessoas até 2050 – um aumento de 3,3% por ano (OMS, 2015). O IBGE prevê que, em 2050, cerca de 30% da população brasileira terá mais de 60 anos (IBGE, 2016). Concomitante ao aumento na expectativa de vida da população, surgem doenças associadas ao processo de envelhecimento, bem como alterações na composição corporal e diminuição da função e desempenho neuromuscular que influenciam na qualidade de vida e independência da pessoa idosa (de Santana *et al*, 2019).

O envelhecimento é um processo multifatorial caracterizado por mudanças graduais e contínuas na estrutura e função de um organismo que ocorre como resultado da passagem do tempo. Na década de 1990, mais de 300 teorias sobre envelhecimento foram reunidas por Medvedev (Medvedev, 1990). Para esse estudo, consideramos envelhecimento como *o declínio funcional e progressivo do indivíduo, que pode ser lento, intermediário ou rápido, dependendo do estilo de vida e da carga genética de cada indivíduo* (Batsis & Villareal, 2018; Arumugam, 2015; Labat-Robert & Ladislav, 2015).

O processo de envelhecimento humano é o resultado da interação de fatores ambientais, de variantes genéticas e de alterações fisiológicas que ocorrem não apenas em nível celular e molecular, mas também em tecidos e sistemas de órgãos (Yin & Chen, 2005).

Não é recente o conhecimento de que o processo de envelhecimento é associado a doenças metabólicas, seja devido à ligação molecular cruzada (Bjorksten, 1968), danos induzidos por radicais livres (Harman, 1981, 1993), que culminam com

mudanças nas funções imunológicas (Effros, 2005). Além disso, o encurtamento de telômeros (Kruk *et al*, 1995; Cawthon *et al*, 2003), a presença de genes de senescência e o acúmulo de gordura na região visceral são fatores que aceleram o aparecimento de doenças cardiovasculares, uma vez que estimulam processos inflamatórios e estimula maior risco de morbidade nesta população (Shao *et al*, 2017).

1.2 Alterações da composição corporal com o envelhecimento

As progressivas alterações na composição corporal ao longo da vida são impactadas por diversos fatores, como idade, sexo, dieta, aspectos genéticos e regularidade (ou não) de atividades físicas.

O músculo esquelético é um dos principais integrantes da composição corporal, assim como a gordura e a massa óssea. Estes três componentes, em conjunto, são essenciais para a fisiologia e o metabolismo (Crescenzo *et al*, 2015).

Durante o envelhecimento há um desvio dos valores normais desses tecidos. Em indivíduos acima dos 70 anos, a quantidade de massa muscular é 20% menor, em média, em relação aos indivíduos com 20 anos (Mitchell *et al*, 2012). Essa redução tem relação direta com a perda de força muscular, diminuindo a autonomia dos movimentos da pessoa idosa. A redução na quantidade de músculo contribui, também, para a diminuição da resistência da massa óssea.

A perda de massa muscular acelera ao final da quinta década, quando aproximadamente 10% da massa muscular total é perdida; aos 80 anos a perda da massa muscular é de 40% (Doherty, 2003). Em pessoas sedentárias, a força muscular diminui de 1% a 3% a cada ano após a terceira década de vida e essa taxa de diminuição pode ser maior após oito décadas de vida (Patel *et al*, 2013).

Para a musculatura esquelética, sua qualidade e adaptabilidade são fundamentais, já que melhoram o desempenho muscular, mantendo a função metabólica e dando suporte à longevidade e à saúde. O músculo esquelético é um tecido programável, capaz de lembrar de estímulos metabólicos do início da vida, o que afeta sua função na vida adulta. Esse é o mecanismo conhecido por epimemória (Sharples *et al*, 2016).

Com a diminuição de movimentação e atividade física, a população idosa está mais sujeita à perda funcional do músculo, fragilidade articular, aumento do número de quedas e, em último ponto, à redução da expectativa de vida (Johnston *et al*, 2008, Patel *et al*, 2013). O aumento progressivo de gordura e a diminuição de massa muscular corroboram com a perda de força muscular, que ocorre mesmo em idosos assintomáticos saudáveis (de Santana *et al*, 2019).

Além das alterações na musculatura, uma nova distribuição de gordura ocorre com o avanço idade, que passa a se acumular na região visceral e estimula mais os processos inflamatórios. O tecido gorduroso em excesso, ao redor de órgãos vitais, é um fator de risco cada vez mais sério para doenças cardiovasculares e diabetes (Kim *et al*, 2014).

Nos Estados Unidos da América (EUA) e Austrália as quedas representam o principal fator de alto custo para o sistema de saúde (Corso *et al*, 2006), sendo a segunda maior causa de ônus econômico, chegando a US\$ 31 bilhões em 2015 nos EUA (Burns *et al*, 2016). A porcentagem de queda em idosos varia entre os países: 20% no Canadá, 35% no Chile, 28% no Reino Unido e 19% na Irlanda. No Brasil, a prevalência de quedas varia de 10% a 35% dependendo da população estudada (Siqueira *et al*, 2011).

No Estudo Longitudinal da Saúde dos Idosos Brasileiros (ELSI) realizado entre 2015 e 2016 com dados de idosos acima de 50 anos, moradores de 70 municípios urbanos, a prevalência de quedas foi de 25,1%, das quais 1,8% resultaram em fratura de quadril ou fêmur e 31,8% realizaram cirurgia para colocação de prótese. Considerando que 75,3% dos idosos brasileiros usam exclusivamente Sistema Único de Saúde (SUS), temos mais de 11 milhões de usuários idosos com risco de queda no sistema público brasileiro (Pimentel *et al*, 2018).

O custo de vida mensal aumenta com o avanço da idade e tem impacto direto na saúde da pessoa idosa. Como a inflação de medicamentos e serviços de saúde é mais que o dobro da inflação financeira (Pastl, 2019) essa população tem mais dificuldade de manter a qualidade de vida e evitar comorbidades. Sendo assim, a taxa de hospitalização de pessoas acima de 60 anos é 30% mais cara quando comparada com a população de 20 a 59 anos (Eeles, *et al*, 2017 Heemann & Hermsdorf, 2017).

O impacto financeiro no SUS é evidente e exige que pelo menos R\$ 100 bilhões sejam investidos nos próximos 10 anos para adequar o sistema ao aumento da população idosa, que hoje é de 28 milhões de homens e mulheres com mais de 60 anos e, em 2050, pode chegar a 55 milhões (IBGE, 2018).

A preservação da qualidade de vida da população idosa que está em ascensão, reflete em sua independência; um idoso saudável é mais ativo, tem menos risco de queda e mantém-se independente por mais tempo (Heinrich *et al*, 2010).

1.3 Individualidade genômica em estudos populacionais

A individualidade genômica humana pode ser estudada pelo fenótipo, entretanto, é mais bem caracterizada no nível do genótipo, através do estudo de

variações genéticas – os polimorfismos – que existem em nosso DNA (Cavalli-Sforza, 1998; Schlotterer, 2004).

A ancestralidade genética tem se mostrado um fator de influência que deve ser avaliado em estudos de associação genética (Seldin *et al*, 2008) e estudos epigenéticos (Giuliani *et al*, 2016; Carja *et al*, 2017). Com as crescentes descobertas de variações genéticas, cada vez mais os marcadores de informação de ancestralidade genética são identificados para rastrear a origem de indivíduos (Tian *et al*, 2008, Norris *et al*, 2018). Os objetivos têm sido aplicados em vários campos de estudos, desde genética populacional, medicina genética (Ioannidis *et al*, 2004), avaliação de efeitos farmacológicos populacionais e até estudos farmacoepigênicos, devido ao seu valor em precisão sobre a saúde da população (Yang *et al*, 2021).

O Brasil é um país com elevada miscigenação genética e cultural. No século 16, com o início da colonização portuguesa, cerca de 2,4 milhões de indígenas habitavam o país. Somado a isso, 4 milhões de escravos de várias etnias foram trazidos da África. As migrações europeias e asiáticas ocorreram ao longo dos séculos 18 e 19 e a mistura dessas populações deu origem aos brasileiros contemporâneos, sendo considerados uma das populações mais heterogêneas do planeta (Parra *et al*, 2003).

Isso permite que muitas etnias sejam encontradas nesse território. As áreas urbanas apresentam uma população especialmente miscigenada uma vez que recebem turistas, imigrantes e refugiados com mais frequência quando comparada com outras áreas.

Pelo fato de as frequências alélicas em uma população variarem com o tempo e o espaço, a observação dessas variações é importante de uma geração para outra e nas várias regiões geográficas. Como a maioria dos estudos genéticos tem sido feita

em populações de ancestralidade europeia, a patogenicidade de variantes raras é mais difícil de avaliar em pessoas de ancestralidade predominantemente não europeia (Jorde & Bamshad, 2020).

Pena e colaboradores (2005) apontam que o uso da cor da pele como etnia autorelatada é um mau preditor de ancestralidade genômica no Brasil. Além disso, De Souza e colaboradores (2019), mostram que as proporções de ascendência genômica europeia, africana e ameríndia no Brasil são de 68,1%, 19,6% e 11,6%, respectivamente, enquanto Pereira e colaboradores (2021), mostraram que nos estados da região amazônica, estas proporções são de 52,6%, 19,8% e 27,7%, revelando que a região amazônica tem uma evidente influência da ascendência genômica ameríndia, semelhante ao que foi observado no presente estudo.

A cidade de São Paulo é a maior cidade do hemisfério sul do globo e 99% de sua população está concentrada na região urbana. A idade média da população está em torno de 30 anos, com distribuição equilibrada entre homens (47%) e mulheres (53%) e apresenta grande desigualdade social e de distribuição de renda; na qual a média de renda mensal é de quatro salários mínimos, porém 31% da população tem uma renda muito baixa de até $\frac{1}{2}$ salário mínimo por mês (Santos-Silva *et al*, 2009).

Os dados avaliados neste estudo são provenientes do EPISONO, um projeto de pesquisa realizado a cada década com objetivo de avaliar a qualidade de sono da população de São Paulo. Por se tratar de um estudo com amostra representativa dos habitantes da cidade, a seleção foi feita por técnica de amostragem probabilística em conglomerados de três estágios (Santos-Silva *et al*, 2009): no primeiro estágio, foi feita uma seleção em 96 distritos das quatro regiões socioeconômicas da cidade conforme classificação pelo censo do IBGE de 2008 - essa etapa assegurou a representatividade dos diferentes níveis de poder aquisitivo da população - no

segundo estágio, foram selecionados 11 domicílios em cada setor por escolha aleatória da primeira casa e, subsequentemente, pulando um número e no último estágio todos os moradores elegíveis de cada domicílio escolhido foram classificados do mais jovem ao mais velho. Cada participante foi selecionado a partir da média dos 96 distritos selecionados.

1.4 Fatores genético associados ao envelhecimento

Além da influência da idade e do sexo nas vias metabólicas, fatores genéticos também estão diretamente relacionados ao sistema muscular (Smith & Muscat, 2005). Os estudos de associação em larga escala (*genome wide association studies* - GWAS) são usados para encontrar as melhores relações entre genótipo e fenótipo. O GWAS é uma análise observacional que permite verificar se alguma variante – em geral polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) - está associada a um dado fenótipo (Chen *et al*, 2014).

Houweling e colaboradores (2018) mostraram que o genótipo RR do gene *alfa-actina 3* (*ACTN3*) tem uma associação positiva com a força muscular em adultos. Urano & Inoue (2015) relacionaram fenótipos com pouca massa muscular e aumento da gordura corporal a SNPs do receptor do hormônio liberador de tireotropina e ao gene *PRDM16* (*gene PR/SET domain 16*), que controla a diferenciação de tecido adiposo marrom e branco e o metabolismo do músculo. Outros quatro estudos encontraram SNPs associados à diminuição de massa muscular nos genes: *thyrotropin releasing hormone receptor* (*TRHR*) (Liu *et al*, 2009), *gremlin 1* (*GREM1*) (Hai *et al*, 2012), *glycine-N-acyltransferase* (*GLYAT*) (Guo *et al*, 2013), *GTPase, IMAP family member 1* (*GIMAP 1*) e o pseudogene *serine hydrolase like* (*SERHL*) (Ran *et al*, 2014).

Estudo realizado com mais de dois mil chineses centenários apontou um único polimorfismo no nucleotídeo rs2069937, da interleucina 6, como a variante genética mais significativa correlacionada à longevidade (Zeng *et al*, 2016) e à sarcopenia (Scheinecker *et al*, 2009).

As alterações na composição corporal de idosos levam ao aumento da prevalência de obesidade nessa população. O gene associado à obesidade *FTO* (*alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase*) tem pelo menos 75 sítios de susceptibilidade para o desenvolvimento desta condição. Os SNPs do gene *solute carrier family 25 member 24 (SLC25A24)* também estão relacionados ao índice de massa corporal (Urano & Inoue, 2015).

Estudos genéticos demonstram que SNPs associados à diminuição da massa muscular parecem estar envolvidos na regulação do metabolismo do músculo.

A sarcopenia foi definida, pela primeira vez em 1997, por Rosenberg, como a *perda de massa muscular que tem como consequências diretas os declínios da força e da função muscular devido às alterações na composição corporal relacionada à idade* (Rosenberg, 1997, 2002), em que a diminuição da massa magra possui um forte componente genético, com herdabilidade que pode variar em mais de 50% (Nguyen *et al*, 1998; Hsu *et al*, 2005).

O diagnóstico da sarcopenia é exclusivamente clínico e realizado na seguinte ordenação, logo após suspeita clínica:

1. medida de preensão palmar com um dinamômetro para avaliar **força**
2. índice de massa muscular esquelética por bioimpedância elétrica como **parâmetro morfológico**
3. teste de velocidade de marcha ou de "sentar e levantar" como avaliação de **performance muscular**

Esse tipo de avaliação permite diagnosticar o paciente quando a condição de sarcopenia já está instalada, e de forma tardia, restando, portanto, a classificação desta condição como leve, moderada ou grave (Cruz-Jentoft *et al*, 2019, Frisoli *et al*, 2011).

A proposta de avaliar um dos componentes da sarcopenia (alteração nos valores de massa muscular apendicular) em uma amostra da população brasileira, que notadamente possui antecedentes genéticos distintos das populações avaliadas em estudos anteriores, pode auxiliar no entendimento da origem da condição sarcopênica e contribuir para prevenção e prognóstico desta condição em nossa população.

1.5 Fatores associados a doenças no envelhecimento

O processo de inflamação associado à idade - denominado de *inflammaging* - foi proposto em 2000 por Franceschi e colaboradores, como um *processo inflamatório crônico (constante) e de baixo nível*. Os hormônios produzidos durante o envelhecimento contribuem para a diminuição da massa magra muscular, iniciando com a diminuição de massa muscular e progredindo para a diminuição de força muscular (diapenia) e, em último estágio, levando à sarcopenia (Abellan van kan *et al*, 2012).

A resposta inflamatória associada à idade é resultado de uma exposição durante toda a vida a infecções clínicas ou subclínicas e agentes infecciosos, resultando em altas cargas antigênicas (Franceschi *et al*, 2016). A resposta inflamatória a essas cargas leva a um dano, em especial no tecido muscular, devido à produção de espécies reativas de oxigênio, resultando da liberação de citocinas.

Isso inicia um círculo vicioso que favorece o estado pró-inflamatório contínuo (Dominguez & Barbagallo, 2016; Doherty 2003).

Existem mecanismos – ilustrados na figura 1 – pelos quais é possível explicar o aparecimento ou a progressão da sarcopenia, condição cada vez mais presente na população idosa, tais como:

- O aumento na secreção de substâncias que aumentam as taxas de degradação proteica como os glicocorticóides (Cruz-Jentoft *et al*, 2010);
- A infiltração de gordura e de células inflamatórias (Cruz-Jentoft *et al*, 2010);
- A diminuição de substâncias que promovem o anabolismo muscular como o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e testosterona (Muscaritoli *et al*, 2010);
- As alterações na estrutura e função da junção neuromuscular (Kwan, 2013);
- A diminuição do conteúdo e da função mitocondrial no tecido muscular também favorecem o desequilíbrio entre as taxas de síntese e degradação proteica (Paddon-Jones *et al*, 2004)

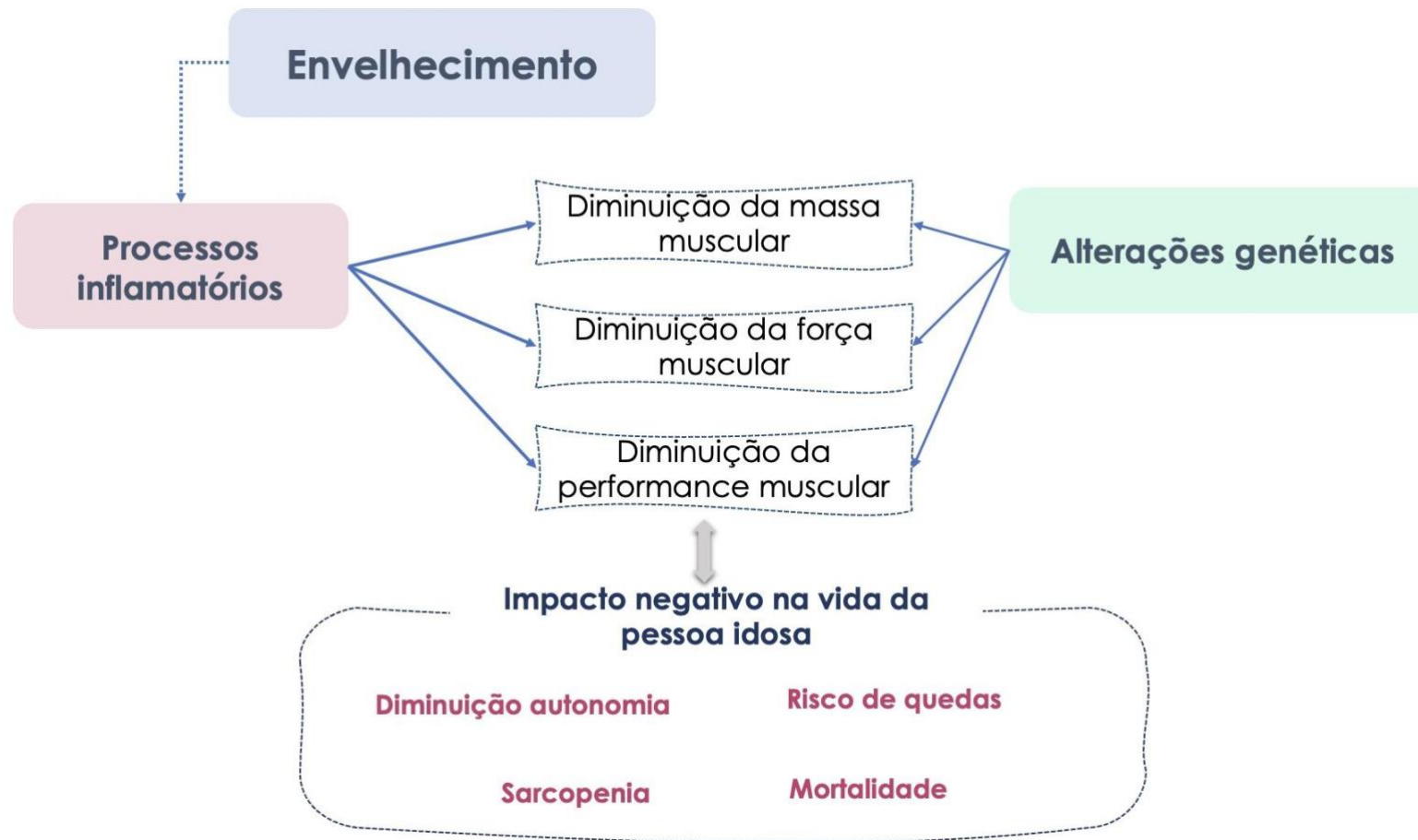


Figura 1: Diagrama esquemático de fatores que influenciam diretamente na musculatura esquelética. Alterações genéticas e processos inflamatórios são intrínsecos ao indivíduo e seu estilo de vida.

2 HIPÓTESE

Levando em consideração a falta de estudos populacionais com *background* genético brasileiro a respeito da relação entre diminuição de massa muscular, biomarcadores genéticos e vias inflamatórias relacionadas ao envelhecimento, nós hipotetizamos que variantes genéticas envolvidas em processos celulares do envelhecimento e na alteração da composição corporal podem estar associadas à variação do índice de massa muscular apendicular (IMMA).

Sabe-se que a diminuição de massa muscular é frequente na população idosa e a identificação de marcadores genéticos e moleculares, antes de acentuar o processo de envelhecimento, pode auxiliar no acompanhamento da redução precoce de massa muscular e, conseqüentemente, da força muscular, direcionando alvos e estratégias terapêuticas.

3 JUSTIFICATIVA

Com o envelhecimento populacional, em 2050, cerca de 20% dos habitantes do planeta serão indivíduos acima de 60 anos; no Brasil, no mesmo ano, a expectativa é de que atingiremos a sexta posição de país mais populoso, concentrando 30% da população com mais de 60 anos (*United Nations* 2015; IBGE, 2016).

A identificação de fatores que podem contribuir para alterar a massa muscular causando sua redução é muito importante pois pode prevenir quedas e fraturas, permitir a melhora da qualidade de vida e independência da pessoa idosa, reduzir o risco de hospitalizações e mortalidade precoce. A inserção da variável genética auxiliará na avaliação de fatores associados à perda de massa muscular, contribuindo para o entendimento da doença em uma fase precoce, pois pode ser medida antes do processo de envelhecimento.

Dessa forma, estudos relacionados ao envelhecimento na população brasileira são de extrema importância, atualmente, uma vez que poderão trazer diversos benefícios à nossa população idosa, como condições de saúde melhores e qualidade de vida.

4 OBJETIVOS



4.1. Objetivo geral

Identificar variantes genéticas associadas à massa muscular, à inflamação e à obesidade na população do estudo de seguimento do EPISONO.

4.2. Objetivos específicos

1. Analisar a frequência alélica por etnia dos SNPS relacionados à massa muscular;
2. Analisar a frequência alélica de genes relacionados à obesidade: *FTO* e polimorfismos relacionados ao sobrepeso;
3. Estabelecer correlação da variável índice de massa muscular apendicular com marcadores inflamatórios;
4. Associar marcadores genéticos com o risco de perda de massa muscular e o envelhecimento.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Amostra utilizada

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo (CEP/Unifesp) com número 0748/2020 (Anexo 3). Os dois estudos anteriores – que originaram o banco de dados utilizado neste trabalho – foram igualmente aprovados pelo CEP/Unifesp com os respectivos números de aprovação: CEP 0593/06 e 2014/610514. Os voluntários leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. A descrição da seleção da amostra usada neste estudo está detalhada no item 1.3 na Introdução desta dissertação.

Foram utilizados os dados de medidas antropométricas, composição corporal, análises laboratoriais bioquímicas, genotipagem em larga escala de SNPs potencialmente associados à massa muscular, obesidade e marcadores inflamatórios de participantes do estudo epidemiológico do sono da cidade de São Paulo (EPISONO) em 2015.

O EPISONO é um estudo epidemiológico sobre o sono, sendo o maior da América Latina, e que tem como objetivo estabelecer a base populacional para determinar o perfil epidemiológico de distúrbios de sono na população adulta da cidade de São Paulo. Este estudo consistiu em diversas etapas como aplicações de questionários, coleta de sangue para análises bioquímicas, imunológicas e extração de DNA pelo método de *salting out* (Miller *et al*, 1998). O número de voluntários foi determinado com o propósito corresponder a uma amostra representativa da população da cidade de São Paulo no ano de 2007, de acordo com o gênero, idade (de 20 a 80 anos) e nível socioeconômico, apresentando 3% de precisão e totalizando 1.042 participantes. Todos os voluntários, originalmente incluídos neste estudo basal, foram convidados por telefone para uma nova visita, a qual se iniciou em julho de 2015.

Para o presente estudo, em específico, foram utilizados os dados de participantes que compareceram no seguimento em 2015. Foram incluídos indivíduos de ambos os sexos, sem restrição de idade, com dados de variáveis antropométricas e bioquímicas. A avaliação genética desses indivíduos foi realizada no estudo basal de 2007.

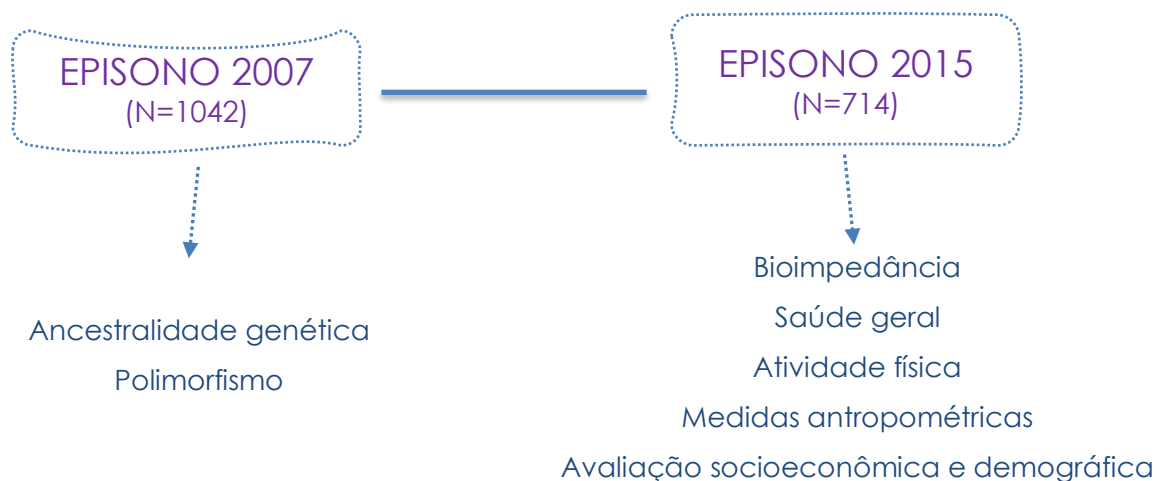


Figura 2: Avaliações e medidas realizadas no momento basal (2007) e no estudo de seguimento (2015).

5.2 Variáveis avaliadas

Para a avaliação de potenciais variáveis de confusão foi aplicado questionário de saúde geral, disponível no anexo 2 (Bittencourt *et al*, 2009) para investigar o histórico autorrelatado de comorbidades como diabetes, infarto, acidente vascular cerebral, doenças renais, problemas na tireoide e desmaios. Foram realizadas as medidas de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, circunferência do pescoço, circunferência da cintura, circunferência de quadril, peso, altura e mensurada a força de preensão manual palmar direita e esquerda.

As análises bioquímicas foram realizadas com sangue coletado em jejum para as medidas de proteína C reativa - realizada pelo método de nefelometria com kit IMAGE® Beckman Coulter (EUA) – medidas de interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10) – ambas pelo método de quimioluminescência (R&D Systems, EUA) seguindo as instruções do fabricante.

Para as avaliações de atividade física foram aplicados questionários de escala de fadiga de Chalder, que avalia fadiga mental e física, composta por 11 itens, com pontuação de 0 a 3 para cada e que mensuram a intensidade de sintomas de fadiga. A soma das respostas com valor maior ou igual a quatro caracteriza a condição de fadiga (Chalder *et al*, 1993) e o questionário internacional de atividade física (IPAQ) – versão curta – que foi aplicado para estimar atividade física habitual, avaliando o tempo (em horas) que o indivíduo realiza atividades ao longo de uma semana e classificando em atividades leves, moderadas ou vigorosas (Craig *et al*, 2003).

5.3 Avaliação da massa muscular apendicular

A avaliação da composição corporal e medidas antropométricas foram realizadas pela análise de bioimpedância elétrica (BIA) usando o aparelho InBody720 (Biospace Ltd, Seul, Coréia). Os oito eletrodos táteis foram posicionados da seguinte forma: quatro na palma e no polegar de ambas as mãos e quatro na sola de ambos os pés. Os eletrodos mediram a impedância de cada segmento corporal em seis frequências distintas: 1kHz, 5kHz, 50kHz, 250kHz, 500kHz, 1000kHz. Os resultados das medidas foram calculados com base no algoritmo do fabricante do aparelho que inclui massas musculares e de gordura, totais e apendiculares.

O índice de massa muscular apendicular (IMMA) foi usado como variável de desfecho e a média deste índice em nossa amostra foi de 7,56 (IC95%: 4,7-11,5). O IMMA foi calculado a partir da somatória da massa muscular de cada membro (pernas e braços) – denominada massa muscular esquelética apendicular (MMEA), ajustada para o IMC de cada participante, de acordo com Piovezan e colaboradores (2019), conforme figura 3 e teve como base as avaliações populacionais de massa muscular esquelética (Studenski, *et al*, 2014).

$$IMMA = \frac{\sum MMEA}{IMC}$$

Figura 3: Equação usada para obtenção da variável de desfecho do trabalho: índice de massa muscular apendicular (IMMA), calculado a partir da somatória das massas musculares esquelética apendicular (de braços e pernas) de cada indivíduo, dividido pelo índice de massa corporal (IMC).

5.4 Genotipagem de polimorfismos em larga escala

O estudo de SNPs candidatos em vias potencialmente associadas à perda de massa muscular apendicular, de alterações físicas musculares e marcadores inflamatórios com fenótipos de perda de massa muscular foi realizado nas amostras de DNA de todos os participantes do estudo EPISONO de 2007. As amostras de DNA desses participantes foram processadas utilizando a plataforma HumanOmniExpress BeadChip (Illumina, Estados Unidos).

Nesta plataforma são utilizados *beads* de *microarrays* de DNA, que interrogaram e genotiparam 730.525 marcadores polimórficos (ou SNPs) em cada uma das amostras, simultaneamente. A quantidade inicial de DNA utilizada varia de 200 a 600 ng de material genômico para amplificação durante a reação isotérmica. Em seguida, o DNA genômico foi fragmentado por enzimas de restrição e precipitado com álcool (isopropanol). O material foi centrifugado para obtenção de pellet, que foi ressuspensionado em tampão de hibridação. A mistura foi aquecida e desnaturada para amplificação no *BeadChip*, e hibridizada com *beads* ligados covalentemente a oligonucleotídeos complementares ao DNA fragmentado. Após esta etapa, o material não hibridizado foi lavado, restando os fragmentos de DNA anelados aos oligonucleotídeos presentes em cada *bead*. Foram adicionados os nucleotídeos marcados para a extensão dos oligonucleotídeos ligados às *beads*. Após várias etapas de marcação para emissão de fluorescência, o *BeadChip* foi lido pelo equipamento iScan (Illumina, Estados Unidos) que capturou imagens em alta

resolução pelo *software* BeadStudio (Illumina, Estados Unidos) para identificação de genótipos (*genotype calling*). Após checagem de controle de qualidade dos *BeadChips* referentes às amostras, os genótipos e sinais brutos foram exportados e processados para análise.

Baseado em uma busca na literatura (Liu *et al*, 2009; Garatachea & Lucía, 2013; Urano *et al*, 2014; Korostishevsky *et al*, 2016; Jones *et al*, 2021), foram selecionados 205 SNPs para a análise de vias potencialmente significativas para a fisiopatologia da perda da massa muscular associada ao envelhecimento. No anexo 1 é possível encontrar a listagem completa.

A etnia e os componentes genéticos relacionados à ancestralidade apresentam um importante papel na determinação do risco genético para o grau de perda de massa muscular. Com os dados resultantes da genotipagem em larga escala e a matriz de correlação genética calculada, torna-se possível inferir a etnia.

A etnia genética foi estabelecida com base em marcadores de ancestralidade informativos que são um tipo específico de variação genética que, devido às grandes diferenças de frequência entre as populações, trazem informações sobre a estrutura populacional e podem ser usados para estimar que proporção de ancestralidade é derivada de uma determinada região geográfica.

Para esse estudo, estimou-se a ancestralidade genética para cada indivíduo, usando o painel genético de todo o genoma, que normalmente não está vinculado aos genes potencialmente relacionados com a variável em estudo (Guindalini *et al*, 2010), e que permitiu uma categorização de acordo com a contribuição genética de três populações fundadoras do brasileiro atual (Europeia, Africana ocidental e Americana nativa).

Esta informação genotípica foi usada em um modelo, que assume que cada indivíduo herdou alguma proporção de sua ancestralidade de cada população ancestral e estima a média posterior destas proporções (Pritchard *et al*, 2000).

5.5 Análise estatística

Foram realizadas análises descritivas para caracterizar o perfil da amostra estudada em relação a idade, sexo, IMC e parâmetros gerais de saúde e os dados apresentados por: **a)** a média e intervalo de confiança, por rejeitarmos a não normalidade distribuição das variáveis; **b)** porcentagem de frequência.

As associações entre grupos e variáveis categóricas foram feitas usando o teste do qui-quadrado, com diferenças observadas pelo resíduo ajustado. Um modelo linear generalizado (GLZMM) foi usado com distribuição gama para determinar o efeito dos SNPs no IMMA, considerando sexo e idade como variáveis independentes e IMMA como a variável dependente. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o JAMOV (2021, versão 1.6 [Software de computador], obtido de jamovi.org (Sydney, AU) e o nível de significância foi fixado em 5%.

Como parte do controle de qualidade, amostras que apresentaram menos que 95% de genótipos válidos foram excluídas da análise e marcadores que apresentaram genótipos válidos em menos de 95% das amostras também foram excluídos. Além disso, marcadores fora do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,001$) também foram excluídos. Por fim, amostras com estimativa de grau de parentesco (*identity by descent*, mensurado pelo parâmetro *pihat*) maior que 15% também foram excluídas (Reich *et al*, 2001). Em seguida, para a variável de interesse (índice de massa muscular apendicular) foi feita uma regressão linear multivariada, utilizando os genótipos dos SNPs selecionados, idade e sexo como variáveis independentes.

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização da amostra

Foram analisados dados sobre as características sociodemográficas de 714 indivíduos na coorte EPISONO 2015, de acordo com a seleção feita pela presença de material genômico preservado nas amostras. Dentro da amostra incluída neste estudo, a idade média foi de 50,3 anos (IC95%: 49,2 - 51,2) e 55,3% dos participantes eram do sexo feminino. A tabela 1 apresenta a análise descritiva referente aos dados sociodemográficos, etnia autorrelatada e etnia genética.

Considerando a etnia autorrelatada, 52,7% dos participantes disseram ser brancos; 23,4%, pardos; 16,3%, negros; 2,9% se consideraram asiáticos; 2,1% indígenas e 2,5% outros. Com relação à análise de etnia genética, 70,7% foram classificados como caucasianos; 14,7% africanos ou negros mistos; 2,7% nativos americanos; 0,6% asiáticos e 11,2% outros. A condição social também foi analisada e classificada de acordo com o questionário de classe social da população brasileira (CCEB, 2003), no qual a classe A corresponde às pessoas com melhor condição de vida (alto nível) e a classe E refere-se à condição de vida mais baixa. Usando esta caracterização, 19% foram classificados como A; 45,6% como B; 35,5% como C; 2% se encontram na classe social D e 1% na classe E.

A tabela 2a e 2b apresentam as características de saúde geral. Chamamos atenção especial para a média do índice de massa corporal (IMC) de 28,2 kg/m² (IC95%: 27,8 - 28,6), que indica sobrepeso, refletindo o que ocorre na população geral da cidade de São Paulo e do Brasil (Triaca *et al*, 2020).

Os dados antropométricos de circunferência do pescoço 37,5cm (IC95%: 37,2 - 37,8), circunferência da cintura 97,5cm (IC95%: 96,5 - 98,5) e circunferência do quadril 104,2cm (IC95%: 103,3 - 105,0) corroboram com os dados de sobrepeso do IMC.

Tabela 1. Análise descritiva dos dados sociodemográficos incluindo a porcentagem de frequência de participantes do estudo de seguimento do EPISONO

	n total	Frequência (%)
Sexo	714	
	Feminino	55,3
	Masculino	44,7
Etnia autorrelatada	714	
	Branco	52,7
	Mulato	23,4
	Negro	16,3
	Asiático	2,9
	Índio	2,1
	Outro	2,5
Etnia com marcadores genéticos	516	
	Caucasiano	70,7
	Asiático	0,6
	Nativo americano	2,7
	Negro ou Mulato	14,7
	Outros	11,2
Classe social	714	
	A	18,2
	B	42,2
	C	34,6
	D	2,0
	E	1,0
Escolaridade	703	
	Sem escolaridade	0,7
	Primário ou fundamental incompleto	17,1
	Primário ou fundamental completo	13,5
	Médio completo	32,7
	Superior completo	36,0

Tabela 2a. Análise descritiva da avaliação antropométrica com valores mínimo e máximo, média e intervalo de confiança de participantes do estudo de seguimento do EPISONO

	n total	Mínimo	Máximo	Média	Intervalo de Confiança 95%
IMC (kg/m ²)	708	14,7	48,5	28,2	27,8 - 28,6
Circunferência de pescoço (cm)	714	28,0	52,0	37,5	37,2 - 37,8
Circunferência de cintura (cm)	714	53,5	146	97,5	96,5 - 98,5
Circunferência de quadril (cm)	714	59,0	144,0	104,0	103,3 - 105,0
PAS (mmHg)	712	88,0	207,0	130,0	128,7 - 131,3
PAD (mmHg)	712	55,0	125,0	82,3	81,6 - 83,3

IMC: índice de massa corporal; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica

Tabela 2b. Análise descritiva da avaliação clínica, incluindo a porcentagem de frequência, dos participantes do estudo de seguimento do EPISONO

	n total	Frequência (%)
Diabetes (sim)	703	15,6
Infarto autorrelatado (sim)	714	2,2
Hipertensão (sim)	705	55,6
Síndrome metabólica (sim)	706	56,8
Obesidade visceral (sim)	705	58,4
Dislipidemia (sim)	705	63,3
Uso de medicamento para o coração (sim)	706	3,3
Uso de anti-hipertensivo (sim)	706	25,8
Uso de hipoglicemiante (sim)	706	10,3
Uso de hipolipemiante (sim)	706	13,6
Uso de medicamento com ação no SNC (sim)	659	13,1

SNC: sistema nervoso central

Mais de 50% de nossa amostra apresentou síndrome metabólica (56,8%), obesidade (58,4%) e dislipidemia (63,3%). Os resultados também mostram um excesso de peso com a média do IMC de 28,2 kg/m² e circunferência da cintura e quadril nos valores-limite superiores, de acordo com as diretrizes Brasileiras de obesidade (Abeso, 2016). Ambos os resultados corroboram com os maiores valores de pressão arterial: sistólica 130mmHg (IC95%: 128,7 – 131,3) e diastólica 82,4mmHg (IC95%: 81,6 – 83,3), indicando que há uma representação significativa de síndrome metabólica, hipertensão arterial e sobrepeso nos participantes do estudo.

O nível de atividade física diária foi avaliado pelo IPAQ. Dentre os indivíduos que responderam o questionário, 36,7% afirmaram que realizam algum tipo de atividade física ou exercício físico, sendo 1,5% praticavam menos que uma vez por semana, 32,5% praticavam entre uma ou duas vezes por semana; 44,4% entre três e seis vezes por semana e 21,8% realizam atividades diariamente.

Apesar da frequência alta de pessoas que relataram práticas de atividades físicas acima de três vezes por semana, que atingiu 66,2% da amostra, vale lembrar que essa porcentagem representa 1/3 da amostra, ou seja, dos 36,7% que disseram praticar alguma atividade física. Sendo assim, os demais 63,3% - que não praticam atividade física – contribuem para os números elevados de IMC, circunferência de cintura e quadril acima do recomendado pela literatura médica.

Com relação ao estado de fadiga, avaliado pela escala de Chalder, a categorização máxima está no valor de quatro e os valores acima de dois indicam fadiga física e mental. O valor médio da amostra avaliada foi 3,54 (IC95%: 3,31 - 3,42), mostrando que os indivíduos, no momento em que foram avaliados, relataram fadiga mental e física.

6.2 Avaliação genética: etnia e polimorfismos

Foram testados 205 SNPs dos quais encontramos 12 com associação significativa ao IMMA, apresentados na tabela 3, com suas respectivas características, localização citogenética e genômica.

Dois dos 12 SNPs estão associados ao gene *FTO* rs9928094 (beta:-0,031; IC95%: -0,059 – -0,003; p=0,029) e rs9930333 (beta: -0,030; IC95%: -0,058 – -0,002; p=0,035) que tem importante relação com o IMC, risco de obesidade e diabetes tipo 2. Estudos em ratos e em humanos indicam que esse gene tem um papel importante no desenvolvimento do sistema nervoso e possível origem de doenças neuropsiquiátricas (Gao *et al*, 2010; Annapoorna *et al*, 2019).

Na tabela 3 estão apresentados os valores de beta para cada um dos SNPs com significância para a variável IMMA.

Valores negativos de beta, indicam que a presença do SNP está associada a uma diminuição dos valores de IMMA, ou seja, menor massa muscular, portanto, maior risco de desenvolvimento da sarcopenia. Já os valores positivos de beta indicam que a presença do SNP está associada a um aumento dos valores de IMMA, portanto, maior massa muscular e, conseqüentemente, menor risco de desenvolvimento da sarcopenia como ilustrado na figura 4.

A tabela 4 indica a frequência alélica dos 12 SNPs significativos para IMMA no total da amostra e distribuídos nas quatro etnias genéticas avaliadas: caucasianos, asiáticos, nativos americanos e negros ou negros mistos.

Para o rs6738433, indivíduos negros e mulatos apresentaram maior frequência de homozigotos para o alelo selvagem (42%, p<0,001) quando comparada com indivíduos caucasianos (27%), asiáticos (38%) e nativos americanos (20%) e menor

frequência de homozigotos para o alelo alternativo (11%), quando compactada com etnia caucasiana (23%), asiática (19%) e nativo americana (36%).

Com relação ao rs6738433, encontramos a menor frequência de homozigotos para o alelo alternativo entre participantes pretos e pardos (11%; $p=0,001$), quando comparada com participantes de etnia caucasiana (23%), asiática (19%) e nativo americanos (36%).

Para o rs76246109, a etnia asiática apresentou menor frequência (56%; $p=0,024$) para o alelo selvagem quando comparada indivíduos caucasianos (83%); nativo americanos (72%) e pretos e pardos (84%). E maior frequência para o alelo alternativo (6%), sendo que caucasianos apresentaram somente 1% de frequência e nativos americanos, pretos e pardos não apresentaram frequência.

Para o rs10189330 a etnia asiática apresenta menor frequência de homozigotos para o alelo selvagem (19%, $p=0,029$) quando comparada com etnias caucasiana (38%); nativo americano (52%) e pretos e pardos (49%).

Para o rs11066301, a etnia asiática apresentou maior frequência de homozigotos para o alelo selvagem (88%, $p<0,001$) quando comparada com etnias caucasiana (36%); nativa americana (64%) e pretos e pardos (64%). Já para a frequência de homozigotos para o alelo alternativo, neste mesmo polimorfismo, a etnia caucasiana apresentou 17% de frequência, enquanto a nativo americana e preta e parda forma 8% e a asiática não apresentou polimorfismo.

Tabela 3. Nível genômico de associações significativas e sugestivas ao IMMA

N	SNP	Chr	Posição Citogenética	Posição Genômica	REF	ALT	Beta	Intervalo de confiança 95%	p-valor	GENE
1	rs6738433	2	p23.3	25159501	G	A	0.039	0.012 - 0.66	0.005	-
2	rs76662990	5	q13.3	73847916	A	G	0.178	0.040 - 0.320	0.011	-
3	rs16839632	1	q43	240361446	A	G	0.038	0.004 - 0.072	0.029	<i>FMN2</i>
4	rs9928094	16	q12.2	53799905	A	G	-0.031	-0.059 -0.003	0.029	<i>FTO</i>
5	rs76246107	19	q13.33	50121274	G	A	0.132	0.013 - 0.251	0.029	<i>PRR12</i>
6	rs1029576	7	p21.1	17065965	G	C	-0.030	-0.057 -0.002	0.035	<i>LOC105375170</i>
7	rs9930333	16	q12.2	53799977	T	C	-0.030	-0.058 -0.002	0.035	<i>FTO</i>
8	rs303143	4	q28.1	124155197	A	G	-0.051	-0.009 -0.003	0.036	<i>SPATA5</i>
9	rs157350	5	q33.3	156139569	G	A	-0.79	-0.155 -0.003	0.041	<i>LOC105377673</i>
10	rs10189330	2	q11.2	99389870	T	G	0.031	-0.001-0.061	0.042	<i>LINC02611</i>
11	rs16852912	3	q26.2	168686676	C	A	0.121	0.002 - 0.240	0.047	<i>MECOM</i>
12	rs11066301	12	q24.13	112871372	A	G	0.034	0.09e/2 - 0.067	0.049	<i>PTPN11</i>

SNP: polimorfismo de nucleotídeo único; **Chr:** cromossomo; **REF:** alelo referência; **ALT:** alelo alternativo; **Beta:** coeficiente de regressão; **p-valor:** nível de significância estatística. O genoma de referência utilizado na análise foi o GR37.

Tabela 4. Frequências genotípicas de acordo com o *background* genético na avaliação basal da coorte EPISONO

	TOTAL			CAUCASIANOS			ASIÁTICOS			NATIVOS AMERICANOS			NEGROS/NEGROS MISTOS			p-valor
	0/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/1	
rs6738433	32%	48%	20%	27%	49%	23%	38%	44%	19%	20%	44%	36%	42%	47%	11%	<0,001
rs76662990	86%	13%	1%	86%	14%	0%	100%	0%	0%	76%	24%	0%	87%	13%	0%	0,208
rs16839632	91%	9%	0%	90%	10%	0%	88%	12%	0%	88%	12%	0%	94%	6%	0%	0,669
rs9928094	34%	47%	19%	32%	48%	19%	56%	38%	6%	40%	56%	4%	36%	44%	20%	0,264
rs76246107	82%	17%	1%	83%	16%	1%	56%	38%	6%	72%	28%	0%	84%	16%	0%	0,024
rs1029576	26%	49%	25%	28%	50%	22%	19%	56%	25%	24%	48%	28%	20%	50%	19%	0,374
rs9930333	34%	47%	19%	32%	48%	20%	56%	38%	6%	44%	52%	4%	35%	44%	21%	0,216
rs303143	94%	6%	0%	95%	5%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	93%	7%	0%	0,193
rs157350	84%	14%	1%	83%	17%	1%	94%	6%	0%	88%	8%	4%	88%	11%	1%	0,238
rs10189330	42%	45%	13%	38%	47%	15%	19%	63%	19%	52%	36%	12%	49%	42%	9%	0,029
rs16852912	89%	11%	1%	91%	8%	1%	94%	6%	0%	80%	20%	0%	84%	15%	1%	0,164
rs11066301	46%	43%	11%	36%	48%	17%	88%	13%	0%	64%	28%	8%	64%	28%	8%	<0,001

Genótipos: 0/0: homozigoto selvagem, 0/1 heterozigoto, 1/1 homozigoto alternativo. Os valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 5. Frequência de sexo e etnia genética de acordo com faixas etárias

	<i>até 39 anos</i>	<i>de 40 a 59 anos</i>	<i>acima de 60 anos</i>
Sexo			
Masculino	46,5%	43,8%	38,8%
Feminino	53,5%	58,2%	61,2%
Etnia genética			
Caucasiano	51,9%	50,3%	58,0%
Asiático	2,2%	1,9%	3,4%
Nativo americano	1,6%	2,7%	3,6%
Negro ou Mulato	27,0%	27,7%	22,0%
Outros	13,0%	12,1%	2,7%

Na tabela 5 são apresentados os dados de frequência de homens e mulheres separados por faixa etária. A fim de observar a distribuição dos alelos por idades fizemos uma estratificação em três faixas etárias apresentando a distribuição da etnia de acordo com esta estratificação: participantes com até 39 anos (adultos jovens), faixa intermediária de 40 a 59 anos (intermediários) e acima de 60 anos (idosos).

A tabela 6 apresenta dados de frequência genotípica de polimorfismos associados ao IMMA e separados por faixas etárias. Na faixa etária intermediária observou-se uma frequência maior de indivíduos homozigotos para o alelo selvagem dos SNPs rs9928094 e rs9930333 em relação às outras faixas etárias. As frequências dos genótipos de rs11066301 mostraram-se alteradas em todas as faixas etárias, sendo que, em jovens, os homozigotos selvagens foram mais frequentes, enquanto em idosos, os mais frequentes foram os homozigotos alternativos. Na faixa intermediária, a frequência foi estatisticamente diferente em ambos os sentidos: os homozigotos selvagens foram mais frequentes, enquanto os homozigotos alternativos, menos frequentes.

Tabela 6: Frequência genotípica dos SNPs associados ao IMMA de acordo com faixas etárias

N	SNP	até 39 anos			de 40 a 59 anos			acima de 60 anos			p-valor
		0/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/1	0/0	0/1	1/1	
1	rs6738433	32,3%	49,0%	18,7%	32,2%	43,8%	24,0%	28,1%	48,9%	23,0%	0,350
2	rs76662990	89,7%	10,3%	0,0%	87,8%	11,5%	0,7%	86,3%	12,9%	0,7%	0,240
3	rs16839632	91,0%	9,0%	0,0%	92,8%	7,2%	0,0%	87,2%	12,8%	0,0%	0,755
4	rs9928094	40,0%	46,5%	13,5%	27,6%*	50,3%	22,0%	34,5%	46,0%	19,4%	0,034
5	rs76246107	83,2%	15,5%	1,3%	81,6%	18,1%	0,3%	85,6%	13,7%	0,7%	0,754
6	rs1029576	21,9%	49,0%	29,0%	26,0%	53,0%	21,0%	25,6%	48,6%	25,6%	0,273
7	rs9930333	40,0%	45,8%	14,2%	27,3%*	50,0%	22,7%	33,8%	46,8%	19,4%	0,030
8	rs303143	94,2%	5,8%	0,0%	95,1%	4,9%	0,0%	98,6%	1,4%	0,0%	0,850
9	rs157350	83,2%	14,8%	1,9%	86,5%	13,2%	0,3%	74,8%	20,9%	4,3%	0,422
10	rs10189330	38,7%	47,7%	13,5%	45,1%	43,4%	11,5%	39,6%	41,0%	19,4%	0,464
11	rs16852912	91,0%	7,7%	1,3%	87,8%	11,8%	0,3%	92,8%	6,5%	0,7%	0,420
12	rs11066301	38,8%	50,3%	11,0%*	53,0%*	39,1%	7,9%*	38,8%	46,0%	15,1%*	0,004

Genótipos: 0/0: homozigoto selvagem, 0/1 heterozigoto, 1/1 homozigoto alternativo. Os valores em negrito indicam significância estatística.

7.1 Perda de massa muscular como preditivo para sarcopenia

O presente estudo analisou possíveis biomarcadores genéticos associados à perda de massa muscular com o intuito de oferecer ferramentas que possam ajudar na obtenção de um diagnóstico alinhado com a medicina de precisão para a sarcopenia relacionada ao envelhecimento, utilizando o IMMA como uma variável de desfecho contínuo em vez de pontos de corte clínico.

A sarcopenia é uma síndrome determinada por medidas corporais e avaliação clínica (Cruz-Jentoft, 2019, Cruz-Jentoft *et al*, 2019, Ichikawa *et al*, 2021) e está altamente associada à perda de massa muscular e diminuição da função muscular (Iannuzzi-Sucich *et al*, 2002). Quando o diagnóstico é feito, os sintomas já estão acentuados e há menor chance de obter um tratamento eficaz para os pacientes. (Morley, 2008; Dent *et al*, 2018).

Os pontos de corte clínicos específicos (*cut offs*) para indivíduos acima dos 60 (Ichikawa *et al*, 2021) ou com mais de 70 anos (Baumgartner *et al*, 1999, Studenski *et al*, 2014) são comuns e fáceis de serem usados, contudo, nas referidas idades, as vias inflamatórias estão intensamente ativadas o que diminui a possibilidade de reverter a situação (Dominguez & Barbagallo, 2016).

Usar a variável de desfecho para este estudo, o IMMA, de forma linear e contínua, permitiu avaliar sua alteração ao longo do tempo, sendo um índice diretamente proporcional à quantidade de massa muscular. Sendo assim, quanto maior o IMMA, maior a quantidade de músculo na pessoa examinada, naquele momento. Para avaliar a perda de massa muscular ao longo da idade, o IMMA pode ser usado conforme explicado na figura 4: se o IMMA é alto acima dos 60 anos, significa que o indivíduo perdeu menos massa muscular, se o IMMA é baixo, significa

que a perda foi maior, caracterizando uma relação inversamente proporcional. Vale lembrar que utilizamos o IMMA de acordo com...

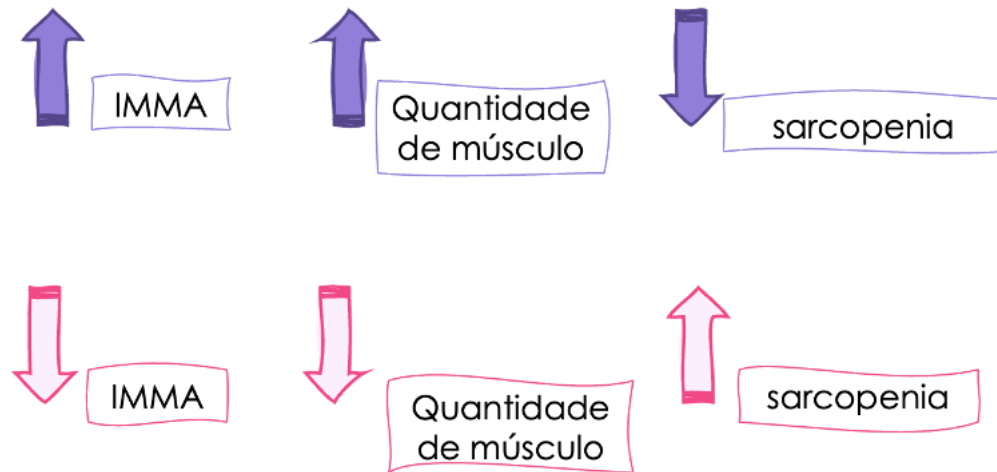


Figura 4: Associação entre índice de massa muscular apendicular (IMMA) e quantidade de músculo no indivíduo com o risco de desenvolvimento de sarcopenia. Na parte superior, as setas em roxo, indicam que quanto maior o IMMA, maior é a quantidade de músculo, portanto, o risco de desenvolvimento de sarcopenia é menor. Na parte inferior, as setas em rosa, indicam que o baixo IMMA é devido à menor quantidade de músculo, o que, consequentemente se associa a maior risco de desenvolvimento da sarcopenia.

A fim de possibilitar a identificação de biomarcadores antes que vias inflamatórias associadas ao envelhecimento estejam ativadas, foram incluídos todos os participantes do estudo de seguimento de 2015 do EPISONO sem restrição de idade (mínima ou máxima) e de ambos os sexos. Entretanto, os dados foram ajustados para idade e sexo, uma vez que estas variáveis, sabidamente, influenciam o IMMA (Frisoli *et al*, 2018, Larsson *et al*, 2019).

7.2 Genética da perda de massa muscular

A plataforma *microarray* (chip) utilizada no presente estudo é composta por 730.525 SNPs dos quais selecionamos 205 de acordo com uma revisão da literatura

(Anexo 1) sobre genes relacionados às vias mais associadas à perda de massa muscular, obesidade, inflamação e envelhecimento.

Fatores genéticos relacionados à fraqueza muscular foram recentemente analisados por Jones e colaboradores (2021) em uma meta-análise de estudos de associação do genoma (GWAS) com 256.523 indivíduos (homens e mulheres) de ancestralidade genética europeia, com 60 anos ou mais, oriundos de 22 coortes independentes - incluindo o Biobank do Reino Unido, o US Health e Retirement Study, o Framingham Heart Study, entre outros. Foram encontrados 15 *loci* associados à dinapenia (perda da força muscular, somente) e à sarcopenia. Em nosso estudo, avaliamos os mesmos 15 alelos, no entanto, não foram encontrados os mesmos polimorfismos. Contudo, no estudo de Jones, foi identificado o SNP rs8061064, que está presente no gene *FTO*.

Curiosamente, também identificamos uma correspondência para dois SNPs no gene *FTO*: rs9928094 (beta:-0,031, p=0,029) e rs9930333 (beta:-0,030, p=0,035). Este gene já foi associado à regulação da alimentação e do jejum e os níveis de RNAm de *Fto* em cérebros de ratos são abundantes, particularmente em núcleos hipotalâmicos que regem o equilíbrio do metabolismo energético (Gerken *et al*, 2007). Os resultados deste estudo, por outro lado, podem sugerir que o *FTO* - que é um gene associado à massa gorda e à obesidade – também pode ser considerado um contribuinte significativo para o fenótipo da perda de massa muscular, trazendo a possibilidade sobre outro papel deste gene, como no desenvolvimento da sarcopenia (Claussnitzer *et al*, 2015). Também encontramos associação significativa para o SNP rs303143 – localizado no gene *SPATA5* (*spermatogenesis associated 5*) – que participa de diversos processos celulares, incluindo a degradação de proteínas. As mutações no gene *SPATA5*, podem causar perda auditiva, convulsões e distúrbios de

movimento (Tanaka *et al*, 2015) e a produção de múltiplas variantes *intrônicas*. Apesar dessas variantes de não trazerem efeitos deletérios, possuem efeito regulador que pode sugerir uma relação entre este SNP e a perda de massa muscular ou comprometimento no seu desenvolvimento. Braun e colaboradores (2021) mostraram que a expressão do gene *SPATA5* em músculo esquelético tem associação com alteração muscular relacionada à deficiência do *SPATA5*, englobando a desregulação de proteínas.

Os três SNPs acima apresentaram valor beta negativo, portanto, indicam a possibilidade de que a presença do polimorfismo tenha relação com uma redução do IMMA, aumentando a perda de massa muscular e influenciando positivamente no desenvolvimento da sarcopenia.

O rs16839632 (beta: 0,038, p=0,029) está associado ao gene *FMN2*, que é um membro da família das proteínas homólogas à formina e com papel essencial na organização do citoesqueleto e na polaridade celular, regulando a diferenciação adipogênica que controla a organização do filamento de actina (Leader & Leder, 2000). Uma vez que é responsável pela formação de uma malha de actina que posiciona o fuso celular durante a oogênese e regula a formação de filamentos de actina no núcleo.

A presença desse SNP pode estar relacionada com a atuação ou regulação do gene *FMN2* (Fernández-Barrera & Alonso, 2018). Esta proteína também participa do sistema de adesão perinuclear da actina que regula a forma e a posição do núcleo durante a migração celular e interfere na polaridade da célula (Skau *et al*, 2018). Em camundongos, o gene *Fmn2* influencia o desenvolvimento de órgãos como intestino e músculo esquelético (Lian *et al*, 2017).

O rs76246107 (beta: 0,132, p=0,029) associado ao gene *PRR12* (*proline rich* 12) é um gene que codifica uma proteína rica em prolina que contém dois domínios de ligação ao DNA em alças A-T. A expressão aumentada deste gene no cérebro embrionário de ratos sugere que este ele pode desempenhar um papel no desenvolvimento do sistema nervoso (Córdova-Fletes *et al*, 2015, Richardson *et al*, 2020).

O rs11066301 (beta: 0,034, p=0,049) está associado ao gene *PTPN11* (*protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11*). Este gene codifica uma proteína da família das proteínas tirosina fosfatase (PTP) que são moléculas sinalizadoras que regulam processos celulares, como o crescimento celular, diferenciação, ciclo mitótico e transformação oncogênica. O gene *PTPN11* é amplamente expresso na maioria dos tecidos e desempenha um papel regulador na sinalização celular que impacta na ativação mitogênica, controle metabólico, regulação de transcrição e migração celular (Zheng *et al*, 2016).

O rs16852912 está associado ao gene *MECOM* (*MDS1 and EVI1 complex locus*) e a proteína por ele codificada é um regulador transcripcional e oncoproteína que pode estar envolvida na sinalização de apoptose, desenvolvimento e diferenciação e proliferação celular (Gao *et al*, 2022).

Os SNPs acima apresentaram valores de beta positivo, portanto, a presença do SNP pode ser associada a um aumento do índice de massa muscular e, conseqüente aumento da massa muscular, o que resultaria em um possível papel protetor no desenvolvimento da sarcopenia.

Já os SNPS rs6738433, rs76662990, rs1029576, rs157350, rs10189330, estão em regiões intergênicas, que são trechos de DNA localizados entre regiões codificadoras e que possuem um papel regulatório mais evidente, uma vez que

incluem *enhancers* (sequências capazes de potencializar a transcrição gênica) (Gemmell, 2021). Portanto, sua possível contribuição na variável de desfecho deste estudo não foi estabelecida, mas pode ser considerada em estudos futuros.

Em recente revisão sistemática de 54 estudos, Pratt e colaboradores (2019) avaliaram polimorfismos e envelhecimento muscular sendo que os genes da *Alfa-actinina 3 (ACTN3)*, também demonstrado por Cho e colaboradores em população coreana (2017), *angiotensina conversora de enzimas (ACE)*, e *gene do receptor de vitamina D (VDR)* foram os mais frequentemente encontrados. Contudo não houve nenhum polimorfismo comum a todas as populações nos estudos avaliados.

Portanto, é importante ressaltar que a influência genética pode explicar parte da variabilidade interindividual da perda de massa muscular, possivelmente relacionadas a genes envolvidos nas vias do metabolismo, reparação de danos no DNA, estresse oxidativo, respostas inflamatórias e imunológicas, e morte celular programada como mostrado neste e em outros estudos (Pratt *et al*, 2019; Torres, 2019, Pereira *et al*, 2021; Yang *et al*, 2021).

7.3 Quando a perda de massa muscular acontece

Estudos indicam que a correlação entre o IMMA e as alterações na composição corporal devem ser observadas por volta dos 40 anos (Dodds *et al*, 2015) e avaliadas em conjunto com a prática de atividade física para uma avaliação precoce.

Em estudo transversal de coorte realizado na Coreia, Ryu e colaboradores (2013) relaram que a prática de atividade física moderada e vigorosa está associada a um risco reduzido de desenvolvimento de sarcopenia. O estilo de vida moderno e ocidentalizado incentiva a escassez de atividade física, o que compromete a saúde física da pessoa idosa. Barbosa-Silva e colaboradores (2016) apontaram que um em

cada dez idosos com idades compreendidas entre os 60-69 anos encontrava-se na fase pré-clínica de sarcopenia na cidade de Pelotas (RG).

Studenski e colaboradores (2014) mostraram o paradigma clínico da sarcopenia e tentaram identificar limiares e critérios clínicos usando múltiplas fontes de dados. Entre os fatores que foram avaliados, os autores observaram que a fraqueza e o baixo índice de massa magra estão no topo dos preditores da sarcopenia. Santilli e colaboradores, em 2014, revelaram a importância epidemiológica de avaliar a perda de massa muscular, uma vez que as variações de perda iniciam com 14% em indivíduos entre 65 e 70 anos e chega à 53% naqueles acima de 80 anos de idade.

Dent e colaboradores (2018), atualizaram a prevalência da sarcopenia variando entre 6% e 22% em adultos com 65 anos de idade ou mais a depender do ambiente de cuidado de saúde (público, privado ou outro). Esta variação considerável surge como resultado de tipos de ferramentas de diagnóstico (as condições da medida de força), a definição de perda de massa magra e muscular e população (etnia, idade, sexo) (Gallagher *et al*, 1997). O diagnóstico precoce e mais preciso pode ajudar a tratar esta condição mais cedo e com mais eficácia (Cruz-Jentoft & Sayer, 2019, Cruz-Jentoft *et al*, 2019).

Entre 2002 e 2006, o estudo AGES-Reykjavik (Harris *et al*, 2007) foi projetado para examinar fatores de risco para a sarcopenia que estava altamente associada à obesidade e examinou 5.764 sobreviventes da coorte original do estudo de 1967 que tinha como objetivo avaliar prospectivamente as doenças cardiovasculares em pessoas nascidas entre 1907 e 1935 residentes em Reykjavik, na Islândia (Mijnarends *et al*, 2016) e encontrou uma incidência de sarcopenia durante os 5 anos de estudo de 9% em participantes mais ativos e de 14,8% em pessoas menos ativas.

Todos os SNPs com associação significativa encontrados em nosso estudo são variantes de significado incerto (VUS), o que significa que a variante genética testada não tem uma contribuição conhecida para uma doença descrita, até o momento. Seu papel na perda de massa muscular e, conseqüentemente, no desenvolvimento da sarcopenia é um ponto de interesse que merece mais atenção.

O Projeto Sarcopenia da Fundação dos Institutos Nacionais de Saúde (FNIH – *Foundation for the National Institutes of Health: Sarcopenia Project*) (Studenski, *et al*, 2014) e o Grupo de Trabalho Europeu sobre Sarcopenia em Pessoas Idosas (EWGSOP - *European Working Group on Sarcopenia in Older People*) (Cruz-Jentoft *et al*, 2019) são os maiores estudos e meta-análises sobre a sarcopenia que avaliaram várias fontes de dados com antecedentes genéticos europeus e americanos. Embora o FNIH e o EWGOP sejam os principais estudos que realizaram uma ampla análise da sarcopenia, ambos utilizam dados de pessoas com antecedentes genéticos de etnia predominantemente caucasiana e se concentram na definição da sarcopenia com base na avaliação antropométrica.

A população brasileira tem um componente de ancestralidade genética com significativa heterogeneidade, o que traz a necessidade de uma análise específica da sarcopenia e da perda de massa muscular para esta população, considerando sua diversidade. EPISONO é um estudo com amostra representativa da população de São Paulo (idealizado para investigação de apneia do sono), permitindo que nossos resultados ajudem outros estudos específicos desta população a avaliar definições de sarcopenia direcionadas às suas características étnicas e, conseqüentemente, à sua formação genética distinta.

Outro fator a ser considerado é que maioria dos estudos que analisaram a condição sarcopênica - ou seus componentes - foram realizados em pessoas idosas.

Este trabalho apresenta dados de população adulta, mostrando a importância de avaliações genéticas a fim de permitir a prevenção da progressão acentuada das alterações da massa muscular, características do processo de envelhecimento.

Com este trabalho, nosso objetivo é que os resultados obtidos possam ser incorporados a outros estudos, trazendo benefícios em termos da diversidade populacional característica do povo brasileiro, que é influenciada pela genética e seus hábitos de vida.

7.4 Composição corporal, marcadores inflamatórios e a perda de massa muscular

Não obstante, a avaliação clínica não pode ser descartada e é, possivelmente, o primeiro contato que o paciente e o médico têm para lidar melhor com a perda de massa magra relacionada à idade, o que nos leva a pensar que as mudanças fisiológicas antes do diagnóstico da sarcopenia - como os índices antropométricos – apontam para uma correlação precoce entre o IMMA e a composição corporal e devem ser investigadas por volta dos 40 anos (Dodds *et al*, 2014).

Nossos resultados mostraram alteração de frequência alélica para ambos os SNPs do gene *FTO* (rs9928094 e rs9930333) na faixa etária de 40 a 59 anos, contribuindo com a informação de que nessa idade as variáveis de influência para perda de massa muscular devem ser profundamente analisadas.

Foi encontrada alteração de frequência para o SNP do gene *PTPN11* em todas as faixas etárias. O *PTPN11* tem um papel regulatório no crescimento muscular e é altamente expresso na musculatura esquelética em humanos (Ahmad *et al*, 1993). Em camundongos, a perda de *Ptpn11* alterou o estado proliferativo de células tronco

musculares para um estado de repouso durante o crescimento muscular, além de diminuir o diâmetro da fibra muscular e alterar no número de núcleos por fibra (Griger *et al*, 2017).

Ao avaliar a influência de marcadores inflamatórios, como IL-6, IL-10 e proteína C reativa e sua correlação com o IMMA não encontramos diferenças significativas (dados não mostrados). Isso se deve, provavelmente, às características de nossa amostra que apresenta sobrepeso (IMC=28,2 kg/m²) e outras condições que elevam, marcadores inflamatórios, uma vez que 56,8% dos indivíduos da amostra apresentam um quadro de síndrome metabólica, 58,4% têm obesidade, 63,3% têm dislipidemia, 55,6% são hipertensos e 25% tomam medicamentos para tratar a hipertensão. Essas condições de saúde são conhecidas por alterar os valores de IL6, IL10 e proteína C reativa e, portanto, podem interferir no estabelecimento de uma associação com o IMMA.

A figura 5 sintetiza as relações e as vias que influenciam no desenvolvimento da sarcopenia.



Figura 5: Diagrama que sintetiza fatores que influenciam na sarcopenia associada ao envelhecimento. Modificado de Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People (Cruz-Jentoft et al, 2010).

7.5 Aplicabilidade dos resultados

Além de permitir uma avaliação precoce, os estudos genéticos podem proporcionar uma melhor compreensão da base evolutiva da sarcopenia em nível mecanicista, contribuindo para a identificação precoce da doença e possibilitando a aplicação clínica em diferentes contextos e fases de seu desenvolvimento.

A sarcopenia é um problema de saúde pública relevante e eminente, afetando muitas pessoas durante o processo de envelhecimento. Os avanços na tecnologia genômica e no perfil genético podem proporcionar a identificação de SNPs relacionados ao risco e abordar novos detalhes que podem facilitar diagnósticos mais precoces com terapias baseadas em precisão para retardar os sintomas e manter os adultos mais velhos autônomos por mais tempo (Dennison et al, 2017).

Estudos como este, realizados em população brasileira, altamente miscigenada, direcionam esforços para a avaliações populacionais para além da ancestralidade europeia, auxiliando a obtenção de dados que irão contribuir para diagnósticos mais precisos em população com *background* genéticos variados.

7.6 Forças e limitações

Embora nosso tamanho de amostra seja pequeno (n=714), encontramos associações estatisticamente significativas com 12 SNPs para perda de massa magra.

A replicação em uma amostra transversal não seria possível, pois nosso fenótipo foi a influência do IMMA nesta amostra. Embora não tenhamos uma coorte

de replicação, acreditamos que os resultados apontam para a importância da prevenção, contribuindo para um prognóstico preciso que pode se beneficiar do uso de um painel genético associado a medidas corporais e avaliação clínica em população de ancestralidade genética como a população brasileira.

É importante salientar que o fator genético não é uma sentença final e o fato de um indivíduo ter um marcador genético não concede a certeza de que ele desenvolverá uma doença específica, porém os resultados podem ajudar a compreender a fisiopatologia da sarcopenia e melhorar os cuidados médicos e o bem-estar da população idosa (Visser & Schaap, 2011)

A identificação desses biomarcadores pode contribuir para o diagnóstico precoce e melhor prognóstico da sarcopenia (Tan *et al*, 2010).

8 Conclusões



O presente estudo identificou 12 variações genéticas significativamente associadas à diminuição do IMMA que podem estar potencialmente envolvidas com os mecanismos fisiopatológicos da perda de massa muscular em uma amostra da população brasileira.

Dentre os 12 polimorfismos encontrados:

Dois estão em genes relacionados ao sobrepeso e desenvolvimento de obesidade,

Quatro mostraram alteração de frequência alélica a depender do *background* genético sendo que destes, três estão em regiões intergênicas e outro polimorfismo está no gene *PTPN11*.

Seis estão em genes que desempenham funções-chave na fisiologia do músculo, sendo que a presença de três deles sugere um fator protetor na progressão da perda de massa muscular associada à idade e a presença de outros três SNPs pode levar a um risco aumentado para esta perda.

Nesta amostra não foi possível encontrar associação entre o índice de massa muscular apendicular e biomarcadores inflamatórios.

9 Referências Bibliográficas



- Abellan van Kan G, Houles M, Vellas B. Identifying sarcopenia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012 Sep;15(5):436-41.
- Ahmad S, Banville D, Zhao Z, et al. A widely expressed human protein-tyrosine phosphatase containing src homology 2 domains. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993 Mar;90(6):2197-201.
- Annapoorna PK, Iyer H, Parnaik T, et al. FTO: An Emerging Molecular Player in Neuropsychiatric Diseases. *Neuroscience*. 2019 Oct;15; 418:15-24.
- Arumugam TV. Introduction. *Ageing Res Rev*. 2015 Nov;24(Pt A):1-2.
- Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – ABEP. Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB); 2003.
- Associação Fundo de Incentivo a Psicofarmacologia – AFIP. Laboratório do sono – Estrutura física e pessoal, técnica polissonográfica, questionário de sono e banco de dados. São Paulo; 2005. Bittencourt LRA, Silva RS, Conway SG.
- Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica - ABESO. Diretrizes Brasileiras de Obesidade – 4 ed. São Paulo, SP; 2016.
- Barbosa-Silva TG, Bielemann RM, Gonzalez MC, et al. Prevalence of sarcopenia among community-dwelling elderly of a medium-sized South American city: results of the COMO VAI? study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2016 May;7(2):136-43.
- Batsis JA, Villareal DT. Sarcopenic obesity in older adults: aetiology, epidemiology and treatment strategies. *Nat Rev Endocrinol*. 2018 Sep;14(9):513-537
- Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol*. 1999 Apr 15;147(8):755-63
- Bjorksten, J. The crosslinkage theory of aging. *J Am Geriatr Soc*. 1968 Apr;16(4):408–27.
- Burns ER, Stevens JA, Lee R. The direct costs of fatal and non-fatal falls among older adults - United States. *J Safety Res*. 2016 Sep; 58:99-103.
- Carja, O. et al. Worldwide patterns of human epigenetic variation. *Nat Ecol Evol*. 2017 Oct;1(10):1577-83
- Cavalli-Sforza LL. The DNA revolution in population genetics. *Trends Genet*. 1998 Feb;14(2):60-5.
- Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, et al. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*. 2003 Feb;1;361(9355):393-5
- Chalder, T, Berelowitz, G, Pawlikowska, T, et al. Development of a fatigue scale. *J Psychosom Res*. 1993;37(2):147–53.

- Chan W, Chin SH, Whittaker AC, et al. The Associations of Muscle Strength, Muscle Mass, and Adiposity with Clinical Outcomes and Quality of Life in Prevalent Kidney Transplant Recipients. *J Renal Nutrition*. 2019 Nov;29(6):536-47.
- Chen M, Yang C, Li C, et al. Admixture mapping analysis in the context of GWAS with GAW18 data. *BMC Proc*. 2014; Jun;12;8(Suppl 1):S3.
- Cho J, Lee I, Kang H. ACTN3 Gene and Susceptibility to Sarcopenia and Osteoporotic Status in Older Korean Adults. *Biomed Res Int*. 2017 May;24; 2017:4239648.
- Claussnitzer M, Dankel SN, Kim KH, et al. FTO Obesity Variant Circuitry and Adipocyte Browning in Humans. *N Engl J Med*. 2015 Sep3;373(10):895-907.
- Córdova-Fletes C, Domínguez MG, Delint-Ramirez I et al. A de novo t(10;19) (q22.3;q13.33) leads to ZMIZ1/PRR12 reciprocal fusion transcripts in a girl with intellectual disability and neuropsychiatric alterations. *Neurogenetics*. 2015 Oct;16(4):287-98.
- Corso P, Finkelstein E, Miller T, et al. Incidence and lifetime costs of injuries in the United States. *Inj Prev*. 2006 Aug;12(4):212–18.
- Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003 Aug;35(8):1381-95.
- Crescenzo R, Bianco F, Mazzoli A, et al. Skeletal muscle mitochondrial energetic efficiency and aging. *Int J Mol Sci*. 2015 May;11;16(5):10674-85.
- Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, et al. European Working Group on Sarcopenia in Older People. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010 Jun;39(4):412-23
- Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019 jan;1(48):16-31.
- Cruz-Jentoft AJ, Sayer AA. Sarcopenia. *Lancet*. 2019 Jun 29;393(10191):2590.
- de Santana FM, Domiciano DS, Gonçalves MA, et al. Association of Appendicular Lean Mass, and Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue With Mortality in Older Brazilians: The São Paulo Ageing & Health Study. *J Bone Miner Res*. 2019 Jul;34(7):1264-74.
- de Souza, AM; Resende, SS, De Sousa, TN, et al. A systematic scoping review of the genetic ancestry of the Brazilian population. *Genet Mol Biol*. 2019 Jul-Sep;42(3):495-508.
- Dennison EM, Sayer AA, Cooper C. Epidemiology of sarcopenia and insight into possible therapeutic targets. *Nat Rev Rheumatol*. 2017 Jun;13(6):340-47.

- Dent E, Morley JE, Cruz-Jentoft AJ, et al. International Clinical Practice Guidelines for Sarcopenia (ICFSR): Screening, Diagnosis and Management. *J Nutr Health Aging*. 2018;22(10):1148-61.
- Dodds RM, Roberts HC, Cooper C, et al. The Epidemiology of Sarcopenia. *J Clin Densitom*. 2015 Oct-Dec;18(4):461-6
- Dodds RM, Syddall HE, Cooper R, et al. Grip strength across the life course: normative data from twelve British studies. *PLoS One*. 2014 Dec;9(12):e113637.
- Doherty TJ, Invited Review: Aging and sarcopenia. *J Appl Physiol*. 2003 Oct;95(4):1717-27.
- Dominguez LJ, Barbagallo M. The biology of the metabolic syndrome and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2016 Jan;19(1):5-11.
- Eeles EM, Hubbard RE, White SV, et al. Hospital use, institutionalisation and mortality associated with delirium. *Age Ageing*. 2010 Jul;39(4):470-5.
- Effros, RB. Roy Walford and the immunologic theory of aging. *Immun. Ageing*. 2005; 2, 7.
- Fernández-Barrera J, Alonso MA. Coordination of microtubule acetylation and the actin cytoskeleton by formins. *Cell Mol Life Sci*. 2018 Sep;75(17):3181-3191
- Franceschi C, Valensin S, Bonafè M, et al. The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives. *Exp Gerontol*. 2000 Sep;35(6-7):879-96.
- Franceschi, C et al. Review Inflammaging and 'Garb-aging'. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2016 Mar;28(3):199-212.
- Frisoli A Jr, Chaves PH, Ingham SJ, Fried LP. Severe osteopenia and osteoporosis, sarcopenia, and frailty status in community-dwelling older women: results from the Women's Health and Aging Study (WHAS) II. *Bone*. 2011 Apr;1;48(4):952-957.
- Frisoli A Jr, Martin FG, Carvalho ACC, et al. Sex effects on the association between sarcopenia EWGSOP and osteoporosis in outpatient older adults: data from the SARCOS study. *Arch Endocrinol Metab*. 2018;62(6) 615-22.
- Gallagher D, Visser M, De Meersman RE, et al. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. *J Appl Physiol*. 1997 Jul;83(1):229-39.
- Gao X, Shin YH, Li M, et al. The fat mass and obesity associated gene FTO functions in the brain to regulate postnatal growth in mice. *PLoS One*. 2010 Nov; 16;5(11):e14005.
- Gao J, Gurbuxani S, Zak T, et al. Comparison of myeloid neoplasms with nonclassic 3q26.2/MECOM versus classic inv(3)/t(3;3) rearrangements reveals diverse clinicopathologic features, genetic profiles, and molecular mechanisms of MECOM activation. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022Feb;61(2):71-80

- Garatachea N, Lucía A. Genes and the ageing muscle: a review on genetic association studies. *Age (Dordr)*. 2013 Feb;35(1):207-33.
- Gemmell NJ. Repetitive DNA: genomic dark matter matters. *Nat Rev Genet*. 2021 Jun;22(6):342.
- Gerken T, Girard CA, Tung YC, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science* 2007 Nov;30;318(5855):1469-72.
- Giuliani C, Sazzini M, Bacalini MG, et al. Epigenetic Variability across Human Populations: A Focus on DNA Methylation Profiles of the KRTCAP3, MAD1L1 and BRSK2 Genes. *Genome Biol Evol*. 2016 Sep 19;8(9):2760-73.
- Griger J, Schneider R, Lahmann I, et al. Loss of Ptpn11 (Shp2) drives satellite cells into quiescence. *Elife*. 2017 May;2,6:e21552.
- Guindalini C, Colugnati FA, Pellegrino R, et al. Influence of genetic ancestry on the risk of obstructive sleep apnea syndrome. *Eur Respir J*. 2010 Oct;36(40):834-41.
- Guo YF, Zhang LS, Liu YJ, et al. Suggestion of GLYAT gene underlying variation of bone size and body lean mass as revealed by a bivariate genome-wide association study. *Hum Genet*. 2013 Feb;132(2):189-99.
- Hai R, Pei YF, Shen H, et al. Genome-wide association study of copy number variation identified *gremlin1* as a candidate gene for lean body mass. *J Hum Genet*. 2012 Jan;57(1):33-7.
- Harman, D. The aging processes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981 Nov;78(11):7124-8.
- Harman, D. Free radical involvement in aging. *Drugs Aging*. 1993 Jan-Feb;3(1):60-80
- Harris TB, Launer LJ, Eiriksdottir G, et al. Age, Gene/Environment Susceptibility-Reykjavik Study: multidisciplinary applied phenomics. *Am J Epidemiol*. 2007 May;165(1):1076-87.
- Heinrich S, Rapp K, Rissmann U, et al. Cost of falls in old age: a systematic review. *Osteoporos Int*. 2010 Jun;21(6):891-902.
- Heemann M, Hermsdorf M. Custo de internações de idosos é 30% maior para o SUS. Estadão, 2017. Disponível em: <https://infograficos.estadao.com.br/focas/planeje-sua-vida/custo-de-internacoes-de-idosos-e-30-maior-para-o-sus>
- Houweling PJ, Papadimitriou ID, Seto JT, et al. Is evolutionary loss our gain? The role of ACTN3 p.Arg577Ter (R577X) genotype in athletic performance, ageing, and disease. *Hum Mutat*. 2018 Dec;39(12):1774-1787.
- Hsu FC, Lenchik L, Nicklas BJ, et al. Heritability of body composition measured by DXA in the diabetes heart study. *Obes Res*. 2005 Feb;13(2):312-19.

Iannuzzi-Sucich M, Prestwood KM, Kenny AM. Prevalence of sarcopenia and predictors of skeletal muscle mass in healthy, older men and women. *J Gerontol Biol Sci Med Sci*. 2002 Dec;57(12):M772-77.

Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística - IBGE. Censo Brasileiro de 2010. Rio de Janeiro; 2012.

Ichikawa T, Miyaaki H, Miuma S, et al. Comparison of calculated body muscle mass and SARC-F as methods of screening for sarcopenia in patients with chronic liver disease. *Biomed Rep*. 2021 Apr;14(4):34.

Ioannidis, JPA, Ntzani, EE, Trikalinos, TA. 'Racial' differences in genetic effects for complex diseases. *Nat Genet*. 2004 Dec;36(12):1312–18.

Johnston AP, De Lisio M, Parise G. Resistance training, sarcopenia, and the mitochondrial theory of aging. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008 Feb;33(1):191-9.

Jones G, Trajanoska K, Santanasto AJ, et al. Genome-wide meta-analysis of muscle weakness identifies 15 susceptibility loci in older men and women. *Nat Commun* 2021 Jan;28(12): 654.

Jorde LB, Bamshad MJ. Genetic Ancestry Testing: What Is It and Why Is It Important? *JAMA*. 2020 Mar; 17;323(11):1089-90.

Kim JH, Lim S, Choi SH et al. Sarcopenia: an independent predictor of mortality in community-dwelling older Korean men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014 Oct;69(10):1244–52

Korostishevsky M, Steves CJ, Malkin I, et al. Genomics and metabolomics of muscular mass in a community-based sample of UK females. *Eur J Hum Genet*. 2016 Feb;24(2):277-83.

Kruk, PA, Rampino, NJ, Bohr, VA. DNA damage and repair in telomeres: relation to aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995 Jan;3(92):258–62.

Kwan P. Sarcopenia, a neurogenic syndrome? *J Aging Res*. 2014: 2014;2014:751469.

Labat-Robert J, Ladislav R. Longevity and aging. Mechanisms and perspectives. *Pathologie Biologie*. 2015 Dec;63(6):272-76.

Larsson L, Degens H, Li M, et al. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Ver*. 2019 Jan;1(99):427-511.

Leader, B, Leder, P. Formin-2, a novel formin homology protein of the cappuccino subfamily, is highly expressed in the developing and adult central nervous system. *Mech Dev*. 2000 May;93(1-2):221-31.

Lian G, Kanaujia S, Wong T, et al. FilaminA and Formin2 regulate skeletal, muscular, and intestinal formation through mesenchymal progenitor proliferation. *PLoS One*. 2017 Dec;14;12(12):e0189285.

- Liu XG, Tan LJ, Lei SF, et al. Genome-wide association and replication studies identified TRHR as an important gene for lean body mass. *Am J Hum Genet.* 2009 Mar;84(3):418-23.
- Medvedev, ZA. An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1990 Aug;65(3):375–98.
- Mijnarends DM, Koster A, Schols JM, et al. Physical activity and incidence of sarcopenia: the population-based AGES-Reykjavik Study. *Age Ageing.* 2016 Sep;45(5):614-20.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research.* 1998 Feb;11;16(3): 1215.
- Mitchell WK, Williams J, Atherton P, et al. Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Front Physiol.* 2012 Jul;13(2):260.
- Morley JE. Sarcopenia: diagnosis and treatment. *J Nutr Health Aging.* 2008 Aug-Sep;12(7):452-6
- Muscaritoli M, Anker SD, Argilés J, et al. Consensus definition of sarcopenia cachexia and pre-cachexia: joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) cachexia-anorexia in chronic wasting diseases and "nutrition in geriatrics. *Clin Nutr* 2010 Apr;29(2):154-9.
- Nguyen TV, Howard GM, Kelly PJ et al. Bone mass, lean mass, and fat mass: same genes or same environments? *Am J Epidemiol.* 1998 Jan 1;147(1):3-16.
- Norris, ET, et al. Genetic ancestry, admixture, and health determinants in Latin America. *BMC Genomics.* 2018 Dec 11;19(Suppl 8):861.
- Organização Mundial da Saúde. Relatório mundial de envelhecimento e saúde; 2015.
- Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Urban RJ, et al. Essential amino acid and carbohydrate supplementation ameliorates muscle protein loss in humans during 28 days bedrest. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Sep;89(9):4351-8.
- Pastl, C. O custo de envelhecer. *Jornal da Universidade. UFRGS.* 2019 Abr 1. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/jornal/o-custo-de-envelhecer/>
- Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 Jan;7; 100(1): 177–82.
- Patel HP, Syddall HE, Jameson K, et al. Prevalence of sarcopenia in community-dwelling older people in the UK using the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition: findings from the Hertfordshire Cohort Study (HCS). *Age Ageing.* 2013 May;42(3):378-84.
- Pena, SDJ. Razões para banir o conceito de raça da medicina Brasileira. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos.* 2005 Mai-Ago;12(1):321-46.

- Pereira EEB, de Carvalho DC, Leitão LPC, et al. Influence of Polymorphism on the NFkB1 Gene (rs28362491) on the Susceptibility to Sarcopenia in the Elderly of the Brazilian Amazon. *J Pers Med*. 2021 Oct;19 11(10):1045.
- Pimentel WRT, Pagotto V, Stopa SR, et al. Falls among Brazilian older adults living in urban areas: ELSI-Brazil. *Rev Saúde Pública*. 2018 Oct;25(52)Suppl 2:12s.
- Piovezan RD, Hirotsu C, Moizinho R, et al. Associations between sleep conditions and body composition states: results of the EPISONO study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2019 Oct;10(5):962-73.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000 Jun;155(2): 945–59.
- Ran S, Liu YJ, Zhang L, et al. Genome-wide association study identified copy number variants important for appendicular lean mass. *PLoS One*. 2014 Mar;13(9):e89776.
- Reich DE, Cargill M, Bolk S, et al. Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature*. 2001 May;10;411(6834):199–204.
- Richardson TG, Sanderson E, Palmer TM, et al. Evaluating the relationship between circulating lipoprotein lipids and apolipoproteins with risk of coronary heart disease: A multivariable Mendelian randomisation analysis. *PLoS Med*. 2020 Mar;23(17):e1003062.
- Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr* 1997 May;127(5 Suppl):990S-991S
- Rosenberg NA, Pritchard JK, Weber JL, et al. Genetic structure of human populations. *Science*. 2002 Dec;20;298(5602):2381-5.
- Ryu M, Jo J, Lee Y et al. Association of physical activity with sarcopenia and sarcopenic obesity in community-dwelling older adults: the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Age Ageing*. 2013 Nov;42(6): 734–40.
- Santilli V, Bernetti A, Mangone M, et al. Clinical definition of sarcopenia. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2014 Sep;11(3):177-80.
- Santos-Silva R, Tufik S, Conway SG, et al. Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study: rationale, design, sampling, and procedures. *Sleep Med*. 2009 Jun;10 (6): 679-85.
- Scheinecker C. et al. Tocilizumab. *Nat Rev Drug Discov*. 2009 Apr;8(4), 273–4.
- Schlötterer C. The evolution of molecular markers--just a matter of fashion? *Nat Rev Genet*. 2004 Jan;5(1):63-9.
- Seldin, MF, Price, AL. Application of ancestry informative markers to association studies in European Americans. *PLoS Genet*. 2008 Jan;4(1):e5.

- Shao A, Campbell WW, Chen O et al. The emerging global phenomenon of sarcopenic obesity: Role of functional foods; a conference report. *J Funct Foods*. 2017;(33):244–250.
- Sharples AP, Stewart CE, Seaborne RA. Does skeletal muscle have an 'epi'-memory? The role of epigenetics in nutritional programming, metabolic disease, aging and exercise. *Aging Cell*. 2016 Aug;15(4):603-16.
- Siqueira FV, Facchini LA, Silveira DS, et al. Prevalence of falls in elderly in Brazil: a countrywide analysis. *Cad Saude Publica*. 2011 Sep;27(9):1819-26.
- Skau CT, Fischer RS, Gurel P, et al. Retraction Notice to: FMN2 Makes Perinuclear Actin to Protect Nuclei during Confined Migration and Promote Metastasis. *Cell*. 2018 Apr; 5 173(2):529.
- Smith, AG, Muscat GEO. Skeletal muscle and nuclear hormone receptors: implications for cardiovascular and metabolic disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 Oct;37(10): 2047-63.
- Studenski SA, Peters KW, Alley DE, et al. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014 May;69(5): 547-58.
- Tan LJ, Liu SL, Lei SF, Papasian CJ, Deng HW. Molecular genetic studies of gene identification for sarcopenia. *Hum Genet*. 2012 Jan;131(1):1-31.
- Tanaka AJ, Cho MT, Millan F, et al. Mutations in SPATA5 Are Associated with Microcephaly, Intellectual Disability, Seizures, and Hearing Loss. *Am J Hum Genet*. 2015 Sep;3 97(3):457-64.
- Tian C, Kosoy R, Lee A, et al. Analysis of East Asia genetic substructure using genome-wide SNP arrays. *PLoS One*. 2008;3(12):e3862.
- Triaca LM, dos Santos AMA, Tejada CAO. Socioeconomic inequalities in obesity in Brazil. *Econ Hum Biol*. 2020 Dec; 39:100906.
- United Nations - Department of Economic and Social Affairs, Population Division. *World Population Ageing Report*; 2015.
- Urano T, Inoue S. Recent genetic discoveries in osteoporosis, sarcopenia and obesity. *Endocr J*. 2015; 62(6):475-84.
- Urano T, Shiraki M, Sasaki N, et al. Large-scale analysis reveals a functional single-nucleotide polymorphism in the 5'-flanking region of PRDM16 gene associated with lean body mass. *Aging Cell*. 2014 Aug;13(4):739-43.
- Visser M, Schaap LA. Consequences of sarcopenia. *Clin Geriatr Med*. 2011 Aug;27(3):387-99.
- Yang, HC, Chen, CW, Lin, YT, et al. Genetic ancestry plays a central role in population pharmacogenomics. *Commun Biol*. 2021 Feb 5;4(1):171.

Yin, D, Chen, K. The essential mechanisms of aging: irreparable damage accumulation of biochemical side-reactions. *Exp Gerontol*. 2005 Jun;40(6):455-65.

Zeng et al. Novel loci and pathways significantly associated with longevity. *Scientific Report*. 2016 Feb;25(6):21243.

Zheng J, Huang X, Tan W, et al. Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation. *Nat Genet* 2016 Jul;48(7):747-57

Anexo 1: SNPs avaliados a partir da literatura e retirados do Catálogo GWAS/UKbiobank

N	CROMOSSOMO	POSIÇÃO	SNP	REF	ALT
1	1	25497792	rs10158481	T	A
2	1	44215828	rs2367725	C	T
3	1	46989472	rs17102247	G	C
4	1	67802371	rs6659932	C	A
5	1	72808551	rs11209947	A	T
6	1	72838529	rs1993709	G	A
7	1	80734581	rs11162963	T	C
8	1	86488232	rs641712	G	A
9	1	96800781	rs12409479	G	A
10	1	114303808	rs6679677	C	A
11	1	114377568	rs2476601	G	A
12	1	114433946	rs1217393	G	A
13	1	173337747	rs2422345	A	G
14	1	177809133	rs12735657	T	C
15	1	177894287	rs506589	T	C
16	1	183532580	rs17849502	G	T
17	1	227776827	rs12140813	C	T
18	1	229019148	rs11585386	C	T
19	1	232599189	rs10910527	C	T
20	1	240361446	rs16839632	A	G
21	2	422144	rs62107261	T	C
22	2	629601	rs6748821	G	A
23	2	630070	rs66906321	C	T
24	2	18509254	rs16984718	G	A
25	2	25135438	rs2384060	A	G
26	2	25159501	rs6738433	C	G
27	2	27741237	rs780094	C	T
28	2	99389870	rs10189330	G	T
29	2	103012902	rs1420095	A	G
30	2	141721142	rs12474609	A	T
31	2	171190117	rs16858164	A	G
32	2	191564757	rs744600	T	G
33	2	191933283	rs13389408	T	C
34	2	191973034	rs10174238	A	G
35	2	198929806	rs7572733	C	T
36	2	211608379	rs4673553	T	G
37	2	238270894	rs10202497	C	A
38	3	58183636	rs35677470	G	A
39	3	105772040	rs60328885	G	A
40	3	115069149	rs10514758	T	G
41	3	120585315	rs322458	C	T
42	3	141093285	rs7624084	C	T
43	3	156102734	rs3772255	C	T
44	3	160159921	rs11706810	T	C
45	3	160312921	rs112846137	G	T
46	3	162681995	rs1425609	G	A
47	3	168686676	rs16852912	C	T
48	3	170272967	rs115474151	T	A
49	4	956047	rs6599390	G	A
50	4	965720	rs13101828	A	G
51	4	980464	rs4690220	A	G

52	4	2752425	rs10937913	G	A
53	4	9920347	rs10805346	T	C
54	4	9926967	rs13129697	T	G
55	4	9985596	rs7680126	A	G
56	4	45181334	rs12507026	A	T
57	4	45184907	rs13104545	G	A
58	4	89039082	rs1481012	A	G
59	4	89052323	rs2231142	G	T
60	4	96363012	rs3846455	C	G
61	4	103188709	rs13107325	C	T
62	4	103198082	rs13135092	A	G
63	4	124155197	rs303143	A	G
64	5	1287340	rs2736099	G	A
65	5	10517908	rs4702698	A	G
66	5	73847916	rs76662990	A	G
67	5	122665465	rs112446794	C	T
68	5	150438477	rs4958880	C	A
69	5	152639677	rs3112530	G	A
70	5	156139569	rs157350	A	G
71	5	159928876	rs4921293	A	G
72	5	162998515	rs294588	C	T
73	5	178086924	rs7711186	T	C
74	6	858970	rs1572438	C	T
75	6	18110556	rs6915893	C	T
76	6	18114246	rs143093668	C	T
77	6	25624800	rs73397619	T	C
78	6	34728071	rs75398113	G	C
79	6	50817748	rs57988840	T	A
80	6	80466124	rs6925255	G	A
81	6	106569270	rs802791	C	T
82	6	138243739	rs58721818	C	T
83	6	161333937	rs1247318	G	C
84	6	161933935	rs16892673	G	A
85	7	7693919	rs12538804	A	G
86	7	12263800	rs11509153	A	G
87	7	16944069	rs74665712	C	T
88	7	17065965	rs1029576	C	G
89	7	22027212	rs7783529	C	T
90	7	24719606	rs2529049	G	A
91	7	51698193	rs10279826	C	A
92	7	86696714	rs1476587	A	G
93	7	93691744	rs9918668	G	A
94	7	99207876	rs7792939	T	C
95	7	114322124	rs13226763	C	T
96	7	128589633	rs10954214	T	C
97	7	128647942	rs13238352	C	T
98	7	142835239	rs9986765	A	G
99	7	150524681	rs10952289	T	C
100	8	1216767	rs34130287	G	C
101	8	11333521	rs17799348	C	T
102	8	11341880	rs2736337	T	C
103	8	74685404	rs2046180	T	G
104	8	90883803	rs2091921	T	C
105	8	118707726	rs3115775	T	C
106	9	76115818	rs383182	T	C

107	10	38218259	rs1005277	C	A
108	10	50026020	rs7919656	G	A
109	11	633689	rs7929541	T	C
110	11	33384447	rs7927262	C	T
111	11	36492191	rs570676	C	T
112	11	61570783	rs174547	T	C
113	11	61571382	rs174549	G	A
114	11	64358265	rs524023	C	T
115	11	74394369	rs11236213	G	A
116	11	86108474	rs4944571	A	G
117	11	124017493	rs4936894	G	A
118	12	14115482	rs4764043	C	T
119	12	15032860	rs34464763	T	A
120	12	30113883	rs1463605	C	G
121	12	45843490	rs10880784	G	T
122	12	50263148	rs7132908	G	A
123	12	51703834	rs766903	A	G
124	12	109980516	rs7956536	T	C
125	12	112871372	rs11066301	A	G
126	13	33585338	rs75535087	C	T
127	13	33587329	rs397703	T	C
128	13	33587652	rs398655	A	C
129	13	33592070	rs562020	G	A
130	13	33592193	rs495392	C	A
131	13	33592313	rs73176817	T	C
132	13	33592527	rs425686	G	C
133	13	33592755	rs568461	T	C
134	13	33592777	rs575536	C	T
135	13	33593270	rs2283368	T	C
136	13	33594156	rs499091	A	G
137	13	33595128	rs211234	G	A
138	13	33598987	rs526906	G	A
139	13	33599198	rs525014	G	A
140	13	33600815	rs9526952	G	A
141	13	33604321	rs12867024	T	C
142	13	33606057	rs563925	C	A
143	13	33606669	rs508394	C	A
144	13	33607814	rs9536234	C	T
145	13	33610711	rs7982726	T	C
146	13	33611114	rs569546	A	G
147	13	33611193	rs8000084	C	T
148	13	33613132	rs685417	A	G
149	13	33613579	rs9526998	G	A
150	13	33615948	rs1334928	T	G
151	13	33616067	rs2516571	A	G
152	13	33617174	rs2320762	T	G
153	13	33622695	rs1888057	C	T
154	13	33622817	rs657049	A	G
155	13	33622882	rs497050	T	C
156	13	33622962	rs2283370	C	T
157	13	33623164	rs2249358	A	G
158	13	33624175	rs683907	T	C
159	13	33624506	rs9563121	C	T
160	13	33625012	rs7987923	C	T
161	13	33627693	rs9527024	G	A

162	13	33628193	rs9527025	G	C
163	13	33628239	rs9527026	G	A
164	13	33634983	rs564481	C	T
165	13	33635463	rs648202	C	T
166	13	33637539	rs9563124	A	G
167	13	33642016	rs9315202	C	T
168	13	33643904	rs677332	A	G
169	13	48387722	rs8001976	C	T
170	13	50986118	rs201789	C	T
171	13	51099577	rs3118903	G	A
172	13	57529602	rs9527561	A	G
173	14	42053901	rs1950832	C	T
174	15	25772908	rs7402241	C	T
175	15	58327347	rs2899611	T	G
176	15	76298132	rs4886755	A	G
177	15	86369430	rs7176093	G	A
178	16	24600412	rs143459567	C	T
179	16	28620800	rs3760091	C	G
180	16	53799905	rs9928094	A	G
181	16	53799977	rs9930333	T	G
182	16	53912364	rs8061064	T	A
183	16	85994484	rs35929052	C	T
184	17	38066267	rs1008723	G	T
185	17	53102367	rs78781855	T	G
186	17	53404725	rs11079160	A	T
187	17	71527243	rs9905921	T	C
188	17	77265878	rs1000791	T	A
189	18	39510074	rs4447506	G	A
190	18	46592408	rs62102286	T	G
191	18	57848531	rs2168711	T	C
192	18	69231235	rs8096590	G	A
193	19	3927771	rs10412199	G	A
194	19	10462513	rs11085725	C	T
195	19	50121274	rs76246107	G	A
196	19	55818225	rs79723785	T	C
197	20	19749957	rs2069126	G	A
198	20	19759942	rs4813371	T	A
199	20	34025756	rs143384	G	A
200	20	41234578	rs7263077	A	G
201	20	48283633	rs17723576	A	G
202	20	62413993	rs6011111	C	A
203	22	27370782	rs2213767	C	T
204	22	27915946	rs11705126	G	C
205	22	46982293	rs9616064	C	T

Fonte: GWAS catalog: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>

Buniello A, MacArthur JAL, Cerezo M, Harris LW, Hayhurst J, Malangone C, McMahon A, Morales J, Mountjoy E, Sollis E, Suveges D, Vrousseau O, Whetzel PL, Amode R, Guillen JA, Riat HS, Trevanion SJ, Hall P, Junkins H, Flicek P, Burdett T, Hindorf LA, Cunningham F and Parkinson H.

The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. Nucleic Acids Research, 2019, Vol. 47 (Database issue): D1005-D1012

Anexo 2: Questionário sobre saúde geral

1.1 Quais das doenças citadas abaixo você apresentou/desenvolveu nos últimos 10 anos? Foram diagnosticadas por um médico? Há quanto tempo? Fez tratamento? Ainda faz tratamento/uso de medicação para essa doença assinalada?

		Questões pertinentes se A="Sim"				Pertinente se D="Sim"
		A. Diagnóstica do por médico?	B. Em que ano foi diagnosticado pela primeira vez? (deixar em branco se não lembra)	C. Ainda tem essa doença?	D. Fez algum tratamento?	E. Ainda está fazendo tratamento atualmente?
1.1.1	Hipertensão arterial (pressão alta)	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.2	Hipertensão pulmonar	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.3	Arritmia cardíaca	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.4	Angina (dor no peito)	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.5	Infarto do miocárdio (trombose coronariana)	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.6	Insuficiência cardíaca	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.7	Doença valvular	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.8	Glaucoma	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.9	AVC (acidente vascular cerebral ou "derrame" ou ataque de isquemia transitório que não deixou sequelas)	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.10	Doença neurológica (epilepsia e convulsões)	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.11	Desmaios	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.12	Doença dos rins	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.13	Tumor benigno. Em que órgão?	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.14	Tumor maligno (câncer). Em que órgão?	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.15	Diabetes	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.16	Problema da tireoide	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim
1.1.17	Outro problema ou doença. Qual?	☐ Não ☐ Sim	☐ ano ☐ Não lembra	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim	☐ Não ☐ Sim

1.2 Nos últimos 7 anos, alguém na família morreu de repente sem ser por acidente?

☐ Não
☐ Sim

1.3 O (a) Sr(a) tem dor nas pernas quando caminha?

☐ Não
☐ Sim

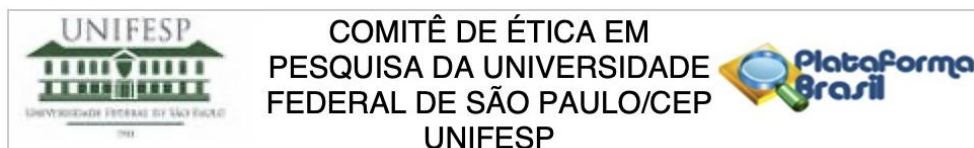
1.4 Alguma vez na vida o(a) Sr(a) fez algum procedimento de cirurgia de "ponte de safena", angioplastia coronariana, cateterismo, ou colocou "stents" (próteses metálicas) no coração devido a problemas cardiovasculares?

☐ Não
☐ Sim

1.4.1 Em que mês(es) e ano(s) isso ocorreu

1.4.2 Quantas vezes isso ocorreu?

Anexo 3: Carta de aprovação do projeto no Comitê de Ética em Pesquisa da Unifesp nº 0748/2020.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise genética de fatores associados à sarcopenia no estudo populacional EPISONO: uma avaliação longit

Pesquisador: Vânia DAlmeida

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 2

CAAE: 34388820.8.0000.5505

Instituição Proponente: Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM

Patrocinador Principal: Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.332.448

Apresentação do Projeto:

-Projeto CEP/UNIFESP n:0748/2020 (parecer final)

-Trata-se de Projeto de MESTRADO de SYLVIA MARIA AFFONSO DA SILVA. Orientadora: Profa. Dra. Vânia DAlmeida; Co-orientador: Prof. Dr. Ronaldo Delmonte Piovezan;

Equipe: Sergio Tufik; Monica Levy Andersen; Priscila Farias Tempaku;

-Projeto vinculado ao Departamento de Psicobiologia, Campus São Paulo, Escola Paulista de Medicina, UNIFESP.

-As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1565948.pdf, gerado em 22/6/2020)

APRESENTAÇÃO: Em 2050, cerca de 20% dos habitantes do planeta terão mais de 60 anos; no Brasil, no mesmo ano, atingiremos a sexta posição de país mais populoso, concentrando 30% da população acima de 60 anos. Com o aumento dessa expectativa de vida surgem, concomitantemente, doenças associadas ao processo de envelhecimento, tais como alterações na composição corporal, diminuição da função e desempenho neuromuscular influenciam na

Endereço: Rua Botucatu, 740

Bairro: VILA CLEMENTINO

CEP: 04.023-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)5571-1062

Fax: (11)5539-7162

E-mail: cep@unifesp.br



Continuação do Parecer: 4.332.448

qualidade de vida e independência do idoso. Uma das causas de fragilidade muscular no idoso é a sarcopenia, que é uma doença multifatorial com diagnóstico difícil. Um dos mecanismos pelo qual é possível explicar o aparecimento ou a progressão da sarcopenia é o background genético. Assim, o objetivo do projeto é identificar variantes genéticas associadas às medidas antropométricas existentes e estabelecer mais um ponto de análise para agregar ao diagnóstico da sarcopenia. Para isso, serão utilizados dados de participantes do estudo de coorte longitudinal EPISONO em idade precoce (40 anos no momento basal do estudo) para verificar se a presença das referidas variantes de risco, podem ser associadas às modificações estruturais e fisiológicas dos pacientes analisados no seguimento do estudo (2015). O material genético (DNA) dos pacientes foi extraído de sangue periférico pelo método Salting out e analisado por microarrays com beads, para genotipagem de marcadores polimórficos (SNPs). O estudo de associação genética em larga escala (GWAS – Genome-wide association study) será aplicado para avaliar SNPs associados às alterações físicas musculares e marcadores inflamatórios em relação ao fenótipo/diagnóstico de sarcopenia. A inserção de mais uma dimensão de análise no diagnóstico da sarcopenia pode permitir uma intervenção precoce, com o objetivo de proteger a musculatura do idoso, diminuindo risco de quedas e contribuindo para a manutenção de sua independência e qualidade de vida, além de auxiliar na prevenção de internações decorrentes de problemas de equilíbrio e marcha, minimizando os impactos no sistema de saúde de longas e contínuas hospitalizações.

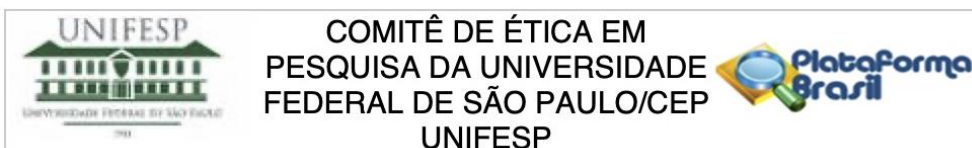
-HIPÓTESE: Considerando a ausência de consenso na literatura a respeito do diagnóstico da sarcopenia, hipotetizamos que marcadores genéticos podem auxiliar no diagnóstico precoce, possibilitando intervenções que previnam a evolução acentuada da doença.

Objetivo da Pesquisa:

-OBJETIVO PRIMÁRIO: Avaliar a frequência de variantes genéticas associadas à atividade muscular, à inflamação e à obesidade na população acima de 40 anos do estudo EPISONO 2007 e 2015.

-OBJETIVO SECUNDÁRIO: Analisar a frequência alélica de genes relacionados aos processos inflamatórios: IL-6, IL-10, KLOTHO; Analisar a frequência alélica de genes relacionados à obesidade: FTO e polimorfismos de sobrepeso; Analisar a frequência alélica de genes relacionados à força muscular: Alfa-actina 3 (ACTN3; R577X); Propor um modelo de associação genética com as variáveis antropométricas e suas alterações ao longo das avaliações basais e de seguimento para contribuir com caracterização do diagnóstico da sarcopenia.

Endereço: Rua Botucatu, 740	
Bairro: VILA CLEMENTINO	CEP: 04.023-900
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062	Fax: (11)5539-7162
	E-mail: cep@unifesp.br



Continuação do Parecer: 4.332.448

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em relação aos riscos e benefícios, o pesquisador declara:

-RISCOS: Não há risco diretamente associado, uma vez que os dados já foram coletados em ambos períodos do projeto (basal, 2007 e seguimento, 2015).

-BENEFÍCIOS: Com o envelhecimento populacional, cerca de 20% dos habitantes do planeta terão acima de 60 anos em 2050. No Brasil, no mesmo ano, atingiremos a sexta posição de país mais populoso, concentrando 30% da população com mais de 60 anos. Em idosos, as quedas representam o principal fator de alto custo, sendo um evento particularmente relevante, uma vez que pode restringir atividades diárias. O diagnóstico precoce da perda de massa muscular (sarcopenia) pode reduzir o risco de quedas e fraturas, melhorando a qualidade de vida e a independência da pessoa em idade avançada. A inserção da variável genética auxiliará o prognóstico da doença, já que fatores genéticos e hormonais contribuem para o desenvolvimento da sarcopenia. Estabelecer uma relação entre elas auxiliará no entendimento da história natural da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

TIPO DE ESTUDO: Trata-se de um estudo longitudinal observacional no qual serão utilizadas amostras dos participantes do projeto EPISONO de 2007 (basal) e 2015 (seguimento). O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (CEP 0593/06) e registrado em ClinicalTrials.gov (número: NCT00596713; nome: Epidemiology of sleep disturbances among adult population of the Sao Paulo City).

LOCAL: Departamento de Psicobiologia, Escola Paulista de Medicina, UNIFESP.

PARTICIPANTES: serão incluídas amostras de 715 participantes.

-Critério de Inclusão: Serão utilizados dados dos participantes de ambos os sexos e com idade acima de 40 anos no momento basal da pesquisa (2007).

PROCEDIMENTOS:

PROJETO ANTERIOR: O EPISONO é o maior estudo epidemiológico de sono da América Latina. O projeto EPISONO, do qual o presente projeto é um subprojeto, foi um estudo de base populacional com o objetivo de estabelecer um perfil epidemiológico de distúrbios de sono da população adulta

Endereço: Rua Botucatu, 740	
Bairro: VILA CLEMENTINO	CEP: 04.023-900
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062	Fax: (11)5539-7162
	E-mail: cep@unifesp.br



COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO PAULO/CEP
UNIFESP



Continuação do Parecer: 4.332.448

da cidade de São Paulo. O estudo consistiu em aplicações de questionários, polissonografia, coleta de sangue para exames de análises clínicas, bioquímicas, imunológicas e extração do DNA de todos os voluntários selecionados. O número de voluntários foi estipulado de modo que correspondessem a uma amostra representativa da população da cidade de São Paulo em 2007, de acordo com o gênero, idade (20-80 anos) e nível sócio econômico. Em 2015 os participantes foram reconvocados para realização dos mesmos procedimentos. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (CEP 610514/2014). Todos os voluntários leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido nos dois momentos da pesquisa: basal e seguimento. O EPISONO teve 1.042 indivíduos adultos em 2007 e 715 em 2015, compondo uma amostra representativa da população da cidade de São Paulo e sua evolução ao longo de oito anos. Apesar de muitas análises já terem sido realizadas com esse banco de dados, nenhuma se direcionou da avaliação genética, variáveis físicas (antropométricas) e o possível diagnóstico de sarcopenia.

PRESENTE PROJETO: Serão utilizados os dados de medidas físicas, antropométricas, análises laboratoriais, carga genética de SNPS específicos para alterações musculares, obesidade e marcadores inflamatórios do estudo populacional EPISONO, realizado em 2007 e seu seguimento em 2015.

Genotipagem de polimorfismos em larga escala: O estudo de associação genética em larga escala (GWAS – Genome-wide association study) de alterações físicas musculares e marcadores inflamatórios com fenótipos/diagnóstico de sarcopenia proposto neste projeto será realizado nas amostras de DNA de todos os participantes do estudo EPISONO de 2007 e análises antropométricas e laboratoriais dos participantes de 2015.

(mais informações, ver projeto detalhado).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1- Foram apresentados os principais documentos: folha de rosto; projeto completo; cópia do cadastro CEP/UNIFESP, orçamento financeiro e cronograma apresentados.
- 2- Propõe dispensa do TCLE. Justificativa: As amostras que serão utilizadas no projeto "Análise genética de fatores associados à sarcopenia no estudo populacional EPISONO: uma avaliação longitudinal" são provenientes dos projetos: "Epidemiologia do sono na cidade de São Paulo – EpiSono 2006 (versão 2006)" aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (CEP 0593/06) e "Epidemiologia do sono na cidade de São Paulo: seguimento dos

Endereço: Rua Botucatu, 740

Bairro: VILA CLEMENTINO

CEP: 04.023-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)5571-1062

Fax: (11)5539-7162

E-mail: cep@unifesp.br



**COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO PAULO/CEP
UNIFESP**



Continuação do Parecer: 4.332.448

voluntários do estudo de base Episono" aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (CEP 610514/2014). Todos os voluntários leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), no qual já havia a autorização da análise de marcadores genéticos (conforme aprovação colocada anexo), portanto para o presente projeto acreditamos que não seja necessário a assinatura de novo TCLE. (Justificativa_Ausencia_TCLE_SylviaMaria.pdf, postado em 2/6/2020)

3- outros documentos importantes anexados na Plataforma Brasil:

- a)- declaração de financiamento da Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa - AFIP (Carta_patrocinador_SylviaMaria.pdf, postado em 22/6/2020)
- b)- Autorização dos pesquisadores responsáveis pelo projeto anterior para os uso das amostras (Declaracao_pesquisadores_aprovacao_anterior_SylviaMaria.pdf, postado em 2/6/2020)
- c)- anuência do chefe do departamento de Psicobiologia (Carta_Anuencia_Depto_Psicobiologia.pdf, postado em 22/6/2020)
- d) TCLEs aplicados nos projetos relacionados anteriores: EPISONO 2007 e 2015

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Respostas ao parecer nº 4197327 de 06 de Agosto de 2020. PROJETO APROVADO.

Após análise das respostas de pendências elencadas abaixo e dos TCLEs aplicados nos projetos EPISONO 2007 e 2015, este relator considera o projeto aprovado.

PENDÊNCIA 1- Foi informado que o presente estudo será um subprojeto de estudos (EPISONO) já realizados e com aprovação desse comitê. Neste sentido, é necessário que seja informado qual o título dos referidos projetos, nome do pesquisador responsável e número CAAE dos projetos. Solicitamos também que os seguintes documentos, referentes aos projetos anteriores, sejam anexados na Plataforma Brasil para compor os documentos necessários para a presente submissão

- a) carta de aprovação CEP/UNIFESP dos projetos anteriores

RESPOSTA: Cartas de aprovação de ambos estudos inseridas na plataforma com arquivos de nome Parecer CEP 2007 e Parecer CEP 2015.

O estudo basal de 2007 foi aprovado pelo Comitê de Ética da UNIFESP 0593/06 o estudo de

Endereço: Rua Botucatu, 740

Bairro: VILA CLEMENTINO

CEP: 04.023-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)5571-1062

Fax: (11)5539-7162

E-mail: cep@unifesp.br

seguimento de 2015 com o número 2014/610514.

b) TCLEs referente aos projetos anteriores: este documento é importante para avaliar quais os termos com os quais os participantes de pesquisa concordaram

RESPOSTA: Termos de Consentimento Livre e Esclarecidos (TCLE) de ambos projetos inseridos na Plataforma com documentos de nome TCLE Episono 2007 e TCLE Episono 2015

Obs.: se algum dos novos objetivos ou procedimentos propostos neste presente projeto não estiverem contemplados no TCLE anterior, deverá ser elaborado e aplicado novo TCLE em que estejam inseridas as novas informações.

RESPOSTA: Não serão realizadas novas análises de quaisquer materiais coletados dos estudos anteriores. As amostras que serão utilizadas no projeto "análise genética de fatores associados à sarcopenia no estudo populacional Episono: uma avaliação longitudinal" são provenientes dos projetos: "epidemiologia do sono na cidade de São Paulo – Episono 2006 (versão 2006)" aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa da universidade federal de São Paulo (cep 0593/06) e "epidemiologia do sono na cidade de São Paulo: seguimento dos voluntários do estudo de base Episono" aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da universidade federal de São Paulo (cep 610514/2014). Todos os voluntários leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), no qual já havia a autorização de avaliações genéticas associadas e análise de marcadores genéticos.

Conforme o objetivo disposto no TCLE de 2007: "esse estudo tem, portanto, o objetivo de verificar o padrão de sono...e índices de saúde bem com as variações genéticas possivelmente associadas a estes padrões..." e no TCLE 2015: "objetivo deste estudo de seguimento é reavaliar o seu sono e os índices de saúde...em longo prazo, no risco de desenvolvimento de doenças, intercorrências e prejuízos à qualidade de vida."

Diante disso, entendemos que os dois termos, previamente aplicados, abarcam e respeitam as análises que já foram realizadas e serão aprimoradas, a fim de contribuir para o entendimento no risco de desenvolvimento de doenças na população de São Paulo. Sabemos que nossa população está envelhecendo, e poder usar os dados de projetos existentes para examinar as alterações ao longo dos anos é de interesse de saúde pública e previsto nos termos anteriormente aplicados.

Em relação à solicitação de dispensa de TCLE: o fato de o participante ter assinado um TCLE anteriormente não o dispensa de nova assinatura, principalmente se os dados ou amostras

Endereço: Rua Botucatu, 740		
Bairro: VILA CLEMENTINO		CEP: 04.023-900
UF: SP	Município: SAO PAULO	
Telefone: (11)5571-1062	Fax: (11)5539-7162	E-mail: cep@unifesp.br



Continuação do Parecer: 4.332.448

biológicas coletados anteriormente forem reanalisados para outros fins. Além disso, o pedido de dispensa deve ser mais bem embasado. Assim, solicitamos que avaliem a pertinência do pedido e, caso entendam que cabe a dispensa, apresentem um novo pedido reformulado e embasado em seus termos
Anexado pedido de dispensa atualizado, doc: Justificativa_ausencia_TCLE_SylviaMaria

PENDÊNCIA 2-O número amostral não está claro: não consta no projeto o número exato de participantes a serem incluídos, enquanto no formulário eletrônico consta como número amostral 715 participantes. Além disso, é preciso dar mais detalhes da população envolvida, tais como faixa etária, sexo, nível socioeconômico, local de residência, entre outros. Favor adequar.

RESPOSTA:O estudo realizado em 2007 (análise basal) contou com 1.042 indivíduos adultos e 715 indivíduos adultos em 2015 (seguimento dos indivíduos de 2007). Serão utilizados no atual projeto os indivíduos que estão em ambos os estudos, portanto, o número máximo será de 715 indivíduos. Serão incluídos os indivíduos de ambos os sexos, acima de 40 anos e com dados de variáveis físicas (antropométricas), laboratoriais e avaliação genética em 2007 e 2015 com as informações inerentes e exclusivas do banco de dados. Não há critérios de exclusão para nível socioeconômico ou local de residência.

Sendo assim, somente após a análise dos bancos de dados, utilizando os critérios acima expostos (ambos os sexos, acima de 40 anos e variáveis em 2007 e 2015) é que a pesquisadora saberá o número final real. Preferimos considerar o número máximo de 715 para dar uma dimensão se que o número final não será maior do que este pelos motivos acima apresentados.

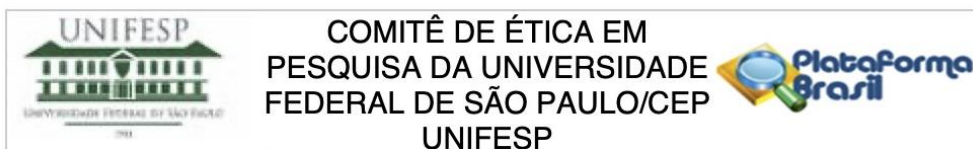
Nenhuma nova coleta será realizada e nenhum objetivo diferente do que disposto no TCLE será realizado.

PENDÊNCIA 3- Adequar, no formulário de informações básicas da Plataforma Brasil, o campo "Riscos":

Conforme orientação da CONEP, lembramos que qualquer pesquisa com seres humanos pode causar algum risco, por mínimo que seja. No que diz respeito a esta pesquisa, por exemplo, a possibilidade de quebra de sigilo das informações dos participantes poderia se configurar como um risco para os participantes e instituições envolvidas.

RESPOSTA:Acrescentamos no formulário a justificativa sobre ausência de risco diretamente

Endereço: Rua Botucatu, 740		CEP: 04.023-900
Bairro: VILA CLEMENTINO		
UF: SP	Município: SAO PAULO	
Telefone: (11)5571-1062	Fax: (11)5539-7162	E-mail: cep@unifesp.br



Continuação do Parecer: 4.332.448

associado, uma vez que os dados já foram coletados em ambos períodos do projeto (basal, 2007 e seguimento, 2015). Com relação à quebra de sigilo e de acordo com o TCLE dos projetos, as informações não são divulgadas individualmente e os voluntários não são identificados em nenhuma etapa do presente projeto.

A pesquisadora que analisará os dados não tem conhecimento dos indivíduos que participaram dos dois estudos anteriores e o banco de dados disponível refere-se somente às variáveis de interesse, estando o banco completo em posse dos coordenadores dos estudos anteriores e protegidos por senha, disponibilizados em hardwares confidenciais.

PENDÊNCIA 4- Caso seja solicitada dispensa de TCLE, deve ser enviada declaração, assinada pelo pesquisador principal, de garantia de sigilo e anonimização dos dados e de responsabilização por qualquer problema em relação a quebra de sigilo dos participantes. Neste documento deve constar que o pesquisador está ciente que deverá obter os dados dos participantes já anonimizados a partir do banco de dados em que se encontram e orientar os demais pesquisadores envolvidos no projeto sobre o sigilo dos mesmos.

RESPOSTA:Declaração anexada no sistema com o documento de nome: declaração dados anonimizados

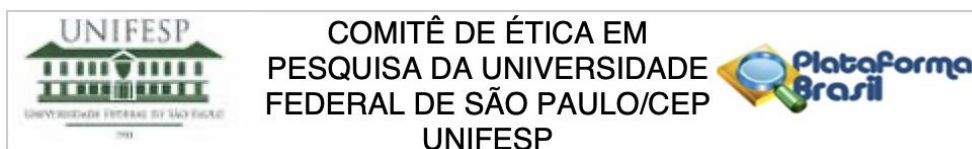
PENDÊNCIA 5- o cronograma (anexado na plataforma Brasil, no formulário de informações básicas da Plataforma Brasil) deve ser readequado/ajustado: deve ser levado em consideração o tempo para a tramitação do projeto no CEP UNIFESP. Uma vez que o projeto ainda está pendente, não haverá tempo hábil para que já esteja em andamento em 01/07/2020.

RESPOSTA:(cronograma anexado ao projeto)

Considerações Finais a critério do CEP:

1 - O CEP informa que a partir desta data de aprovação toda proposta de modificação ao projeto original, incluindo necessárias mudanças no cronograma da pesquisa, deverá ser encaminhada por meio de emenda pela Plataforma Brasil.

2 - O CEP informa que a partir desta data de aprovação, é necessário o envio de relatórios parciais (semestralmente), e o relatório final, quando do término do estudo, por meio de notificação pela Plataforma Brasil.



Continuação do Parecer: 4.332.448

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 11 de Outubro de 2020

Assinado por:
Miguel Roberto Jorge
(Coordenador(a))

Anexo 4: Histórico escolar



Serviço Público Federal
Universidade Federal de São Paulo
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa



HISTÓRICO ACADÊMICO

Nome: **SYLVIA MARIA AFFONSO DA SILVA**

Sexo: **F**

Nascimento: **03/12/1979**

Naturalidade: **SAO PAULO/SP**

CPF: **268.720.228-25**

RG: **30.927.320-1-SSP/SP**

Nº da Matrícula: **29369**

Início: **01/11/2020**

Nº da Pasta: **20200100527**

Situação: **EM CURSO**

Homologação do Título:

Forma de Ingresso: **REGULAR**

Programa: **PSICOBIOLOGIA**

Nível: **MESTRADO**

Reconhecido de acordo com o disposto na Portaria MEC nº 609 de 14/03/2019, D.O.U. de 18/03/2019.

Título da Tese: **ANÁLISE GENÉTICA DE FATORES ASSOCIADOS À PERDA DE MASSA MAGRA NO ESTU
POPULACIONAL EPISONO: UMA AVALIAÇÃO TRANSVERSAL**

Orientador(a): **VANIA D ALMEIDA**

Defesa:

1º Língua Estrangeira: **INGLÊS**

2º Língua Estrangeira:

Graduação: **CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Instituição: **CENTRO UNIVERSITARIO SAO C**

Início: **1998** Término: **2001**

Unidade Curricular

	<i>Ano</i>	<i>Freq.</i>	<i>Conceito</i>	<i>Crédit</i>
Atividade Física e Saúde Mental	2020	100	A	2
CURSO EM MEDICINA GENÔMICA (OFTALMOLOGIA)	2017	100	A	1
EMOÇÃO E SAÚDE MENTAL EM POPULAÇÃO EM SITUAÇÃO DE RUA: DAS MOLÉCULAS À SOCIEDADE	2021	100	A	3
ESTATÍSTICA APLICADA À PSICOBIOLOGIA	2017	100	A	7
METODOLOGIA DE PESQUISA EM SAÚDE MENTAL	2016	100	B	4
PRINCÍPIOS BÁSICOS EM PSICOBIOLOGIA	2019	88	B	6
PRINCÍPIOS ÉTICOS NA PESQUISA CIENTÍFICA	2017	100	A	3
RIGOR ÉTICO NA PESQUISA EM ANIMAIS	2016	85	B	4
TÓPICOS ESPECIAIS E ATUALIDADES EM SONO E SOCIEDADE: ASPECTOS BÁSICOS E COMPORTAMENTAIS	2021	100	A	3
TÓPICOS ESPECIAIS E ATUALIDADES EM SONO E SOCIEDADE: MODELOS DE INTERVENÇÕES	2021	100	A	3
Total de créditos:				36

Legenda:

A-Ótimo / B-Bom / C-Regular / D-Insuficiente

Cursos realizados até dia 31/12/2011: 1 crédito = 12 Horas

Cursos realizados a partir de 01/01/2012: 1 crédito = 15 Horas

Créditos necessários para o MESTRADO: 25

São Paulo, 25 de agosto de 2022

Anexo 5: Aprovação qualificação do Mestrado realizada em maio de 2022 de, online e pública



Parecer sobre o Exame de Qualificação Mestrado

Nome da aluna: Sylvia Maria Affonso da Silva

Data: 04 de maio de 2022 - **Horário:** 09h00 – on-line

Favor justificar os itens com conceito **Regular** e **Insatisfatório** no campo **Observações**

Conceito final do item Manuscrito	() Excelente (x) Bom () Regular () Insatisfatório
Conceito final do item Aula	() Excelente (x) Bom () Regular () Insatisfatório
Conceito final do item Arguição	() Excelente (x) Bom () Regular () Insatisfatório
Conceito final das Atividades Complementares	() Excelente (x) Bom () Regular () Insatisfatório

Observações:

Várias sugestões foram feitas pela banca para melhoria do artigo antes que ele seja enviado para publicação.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

Escola Paulista de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia



Resultado do Exame

☒ **Aprovado**

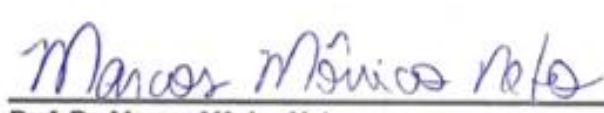
☐ **Reprovado**



Profa. Dra. Dalva Lucia Rollemberg Poyares



Dr. Eduardo Perrome



Prof. Dr. Marcos Mônico-Neto

Anexo 5: Artigo científico publicado durante o desenvolvimento do mestrado que avaliou SNPs para apneia

Sleep Medicine 83 (2021) 210–213



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Sleep Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/sleep



Brief Communication

Klotho genetic variants mediate the association between obstructive sleep apnea and short telomere length



Priscila Farias Tempaku^a, Vânia D'Almeida^a, Sylvia Maria Affonso da Silva^a,
Monica Levy Andersen^a, Sintia Iole Belangero^b, Sergio Tufik^{a,*}

^a Departamento de Psicobiologia and Morfologia e Genética, Universidade Federal de São Paulo, Brazil

^b Morfologia e Genética, Universidade Federal de São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 November 2020

Received in revised form

30 December 2020

Accepted 12 January 2021

Available online 16 January 2021

Keywords:

Sleep

Obstructive sleep apnea

Telomere length

Klotho

ABSTRACT

The core features of obstructive sleep apnea (OSA) can potentially contribute to the acceleration of telomere shortening mechanisms. Other factor associated with telomeres is *Klotho* gene as it can negatively regulates telomerase activity. Noteworthy, KLOTHO protein level has recently been associated with OSA. In this sense, it was plausible to hypothesize that OSA would be associated with short telomere length and those with OSA plus risk single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *Klotho* gene would present even shorter telomere length. As part of the EPISONO cohort, 1042 individuals answered questionnaires, underwent polysomnography and had blood collected for DNA extraction. OSA was defined according to AHI ≥ 15 events/hour. Leukocyte telomere length (LTL) was measured through real-time polymerase chain reaction (qPCR) and *Klotho* SNPs were genotyped by array. Mediation analyses considered the presence of SNPs in *Klotho* gene and how this interaction can affect OSA and its consequence in telomere length. All the analyses were corrected for multiple comparisons. LTL was significantly shorter in OSA compared to controls in a severity-dependent manner ($B = 0.055$; $CI = 0.007 - 0.102$; $p = 0.02$). Among the 43 *Klotho* SNPs analyzed, we observed that 4 SNPs (rs525014, rs7982726, rs685417 and rs9563124) significantly mediated the association between OSA and short LTL. *Klotho* gene opens a new venue in OSA research since it can contribute in the increase of knowledge of the mechanisms involved in the consequences of short telomeres in individuals with OSA.

© 2021 Published by Elsevier B.V.