

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

GENÉTICA DA OBESIDADE
ESTUDO DE MARCADORES MOLECULARES

Ana Catarina Honrado Ginete

Orientador: Miguel Brito (ESTeSL)

Mestrado em Tecnologias Moleculares em Saúde

Lisboa, 2020

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

GENÉTICA DA OBESIDADE
ESTUDO DE MARCADORES MOLECULARES

Ana Catarina Honrado Ginete

Orientador: Miguel Brito (ESTeSL)

JÚRI: Presidente: Maria Helena Soares (ESTeSL)

Arguente: Ana Maria Pires (Universidade Atlântica)

Mestrado em Tecnologias Moleculares em Saúde

Lisboa, 2020



Mestrado em
Tecnologias
Moleculares
em Saúde

GENÉTICA DA OBESIDADE
ESTUDO DE MARCADORES MOLECULARES

Ana Catarina
Ginete

2020

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer ao Professor Miguel Brito pelo voto de confiança e pela oportunidade de participar neste estudo, por todo o apoio e pela total disponibilidade para me acompanhar neste desafio.

Quero também agradecer ao Dr. José Silva Nunes pelo recrutamento dos participantes e recolha das amostras e também ao Bernardo Serrasqueiro que realizou o processamento laboratorial das amostras.

Não poderia também deixar de agradecer à minha família e amigos, pelo apoio incondicional, pela compreensão quando não pude estar tão presente e pelas palavras de motivação que não faltaram ao longo deste caminho.

Resumo

A obesidade constitui um grave problema de saúde pública, com uma forte componente genética que se relaciona de uma forma complexa com fatores ambientais. A identificação dos genes implicados na regulação do peso corporal e das variantes associadas ao desenvolvimento da obesidade são elementos essenciais para a melhoria tanto do diagnóstico como do tratamento.

Baseado numa população portuguesa, foram sequenciados 65 genes associados à obesidade com o objetivo de identificar variantes associadas a obesidade monogénica e potenciais fatores de risco associados à obesidade. A análise foi feita por *Next-Generation Sequencing* (NGS), em DNA extraído a partir de amostras de células do epitélio bucal, de 72 indivíduos.

Foram detetadas 429 variantes, das quais 129 já haviam sido relacionadas com o fenótipo em estudo. Resultante da comparação com as frequências Europeia e Global, registadas no *1000 Genomes*, foram identificadas 23 potenciais variantes de risco.

Foram identificadas 6 novas variantes, em 6 indivíduos em heterozigotia, sendo 4 *missense* (ALMS1 - NM_015120.4:c.5552C>T; SORCS1 - NM_001013031.2:c.1072A>G e NM_001013031.2:c.2491A>C; TMEM67 - NM_153704.5:c.158A>G) e 2 sinónimas (BBS1 - NM_024649.4:c.1437C>T; TMEM67 - NM_153704.5:c.2583T>C). Para validação destas identificações e avaliação da penetrância e patogenicidade destas variantes, as amostras deveriam ser sequenciadas por *Sanger* e estudos funcionais deveriam ser realizados.

Não foi identificado nenhum caso de obesidade monogénica não síndromica.

A realização deste tipo de estudos é extremamente importante numa altura em que ainda se procura compreender a etiologia e fisiopatologia da obesidade, permitindo a identificação de variantes raras associadas ao fenótipo e o estudo de prevalências em populações específicas.

Abstract

Obesity is a major public health problem, which has a strong genetic component that interplays with environmental factors. Identifying genes implicated in the regulation of body weight and variants that can be associated with obesity are key elements for improving both diagnostic and treatment.

Based in a Portuguese population, 65 genes related to obesity were sequenced to identify variants associated to monogenic obesity and to identify potential risk factors associated with obesity. The method selected was Next-Generation Sequencing (NGS), using DNA

extracted from samples of mouth epithelial cells, collected from a population of 72 individuals.

429 variants were identified, 129 of which had already been associated with the phenotype. Comparing our results with the European and Global frequencies, listed by the 1000 Genomes project, 23 potential risk variants were identified.

6 new variants were discovered, in 6 heterozygous carriers: 4 missense (genes ALMS1 - NM_015120.4:c.5552C>T; SORCS1 - NM_001013031.2:c.1072A>G e NM_001013031.2:c.2491A>C; TMEM67 - NM_153704.5:c.158A>G) and 2 synonymous (genes BBS1 - NM_024649.4:c.1437C>T; TMEM67 - NM_153704.5:c.2583T>C). Samples where these new variants were identified should be sequenced by Sanger and functional studies should be performed, to validate these new findings and evaluate their penetrance and pathogenicity.

No cases of monogenic non-syndromic obesity were identified.

This kind of investigational studies is extremely important in a time where we're still trying to understand the etiology and pathophysiology of obesity, allowing the identification of rare variants associated with obesity and the study of prevalences in specific populational groups.

Palavras-Chave: *Obesidade, Obesidade Monogénica, Next-Generation Sequencing (NGS)*

Key Words: *Obesity, Monogenic Obesity, Next Next-Generation Sequencing (NGS)*

Índice

1. Enquadramento teórico.....	1
1.1. Painel de genes.....	4
1.1.1. Genes ADRB1, ADRB2 e ADRB3.....	4
1.1.2. Gene ALMS1.....	5
1.1.3. Genes BBS.....	5
1.1.4. Genes BDNF e NTRK2.....	5
1.1.5. Gene CCDC28B.....	6
1.1.6. Gene CPE.....	6
1.1.7. Gene FTO.....	6
1.1.8. Genes G6PC e PCK1.....	6
1.1.9. Gene GNAS.....	7
1.1.10. Genes IGF-2 e IGF-2R.....	7
1.1.11. Genes IRS1, IRS2 e IRS4.....	7
1.1.12. Genes LEP, LEPR, PCSK1, POMC e MC4R.....	7
1.1.13. Gene MC3R.....	8
1.1.14. Gene LRP2.....	8
1.1.15. Genes MAGEL2, MKRN3, NDN e SNURF-SNRPN.....	9
1.1.16. Gene MCHR1.....	9
1.1.17. Gene NEGR1.....	9
1.1.18. Genes NPY, NPY1R e NPY2R.....	9
1.1.19. Gene PAX-6.....	10
1.1.20. Gene PHF6.....	10
1.1.21. Gene PPARG.....	10
1.1.22. Gene PRKAR1A.....	10
1.1.23. Gene PTEN.....	11
1.1.24. Gene SH2B1.....	11
1.1.25. Gene SIM1.....	11
1.1.26. Gene SLC6A14.....	11
1.1.27. Gene SORCS1.....	11
1.1.28. Gene SPG11.....	11
1.1.29. Gene THRB.....	12
1.1.30. Gene TBX3.....	12
1.1.31. Gene TMEM 67.....	12
1.1.32. Genes UCP1, UCP2 e UCP3:.....	12
2. Objetivo.....	13
3. Metodologia.....	15
3.1. Caracterização da amostra.....	17

4. Apresentação e Discussão dos Resultados	19
4.1. Resultados por Gene	20
4.1.1. ADRB1	20
4.1.2. ADRB2	21
4.1.3. ADRB3	22
4.1.4. ALMS1	22
4.1.5. BBS1	24
4.1.6. BBS2	25
4.1.7. BBS3/ARL6	26
4.1.8. BBS4	27
4.1.9. BBS5	27
4.1.10. BBS6/MKKS	28
4.1.11. BBS7	28
4.1.12. BBS8/TTC8	28
4.1.13. BBS9	29
4.1.14. BBS10	30
4.1.15. BBS11/TRIM32	30
4.1.16. BBS12	30
4.1.17. BBS13/MKS1	31
4.1.18. BBS14/CEP290	31
4.1.19. BBS15/WDPCP	32
4.1.20. BBS17/LZTFL1	33
4.1.21. BDNF	33
4.1.22. CCDC28B	34
4.1.23. CPE	34
4.1.24. FTO	34
4.1.25. G6PC	35
4.1.26. GNAS	35
4.1.27. IGF2	35
4.1.28. IGF2R	36
4.1.29. IRS1	37
4.1.30. IRS2	37
4.1.31. IRS4	38
4.1.32. LEP	38
4.1.33. LEPR	38
4.1.34. LRP2	39
4.1.35. MAGEL2	40
4.1.36. MC3R	41

4.1.37. MC4R.....	41
4.1.38 MCHR1	41
4.1.39. MKRN3.....	42
4.1.40. NDN	42
4.1.41. NEGR1.....	42
4.1.42. NPY.....	42
4.1.43. NPY1R	43
4.1.44. NPY2R	43
4.1.45. NTRK2	43
4.1.46. PAX6.....	44
4.1.47. PCK1.....	44
4.1.48. PCSK1	45
4.1.49. POMC	45
4.1.50. PPARG.....	46
4.1.51. PRKAR1A	46
4.1.52. SH2B1.....	46
4.1.53. SIM1.....	47
4.1.54. SLC6A14.....	47
4.1.55. SNRPN.....	47
4.1.56. SORCS1	47
4.1.57. SPG11.....	48
4.1.58. TBX3.....	48
4.1.59. THRB	49
4.1.60. TMEM67.....	49
4.1.61. UCP1	50
4.1.62. UCP2	50
4.1.63. UCP3	50
4.2. Análise Global.....	51
4.2.1. Consequência das variantes	51
4.2.2. Incidência de Variantes nos genes em estudo	53
4.2.3. Identificação de potenciais alelos de risco.....	54
4.2.4. Novas variantes detetadas:.....	55
4.3. Análise por amostra.....	55
4.4. Limitações do presente estudo	58
5. Considerações Finais.....	59
6. Referências Bibliográficas	61
Anexo I.....	67
Anexo II.....	70

Índice de Tabelas

Tabela 1.1.1 – Painel de genes associado à obesidade utilizado neste estudo e sua localização citogenética	4
Tabela 4.1.1.1 - Variantes detetadas no gene ADRB1	20
Tabela 4.1.2.1 - Variantes <i>missense</i> detetadas no gene ADRB2	21
Tabela 4.1.3.1 - Variantes detetadas no gene ADRB3	22
Tabela 4.1.4.1 – Variantes <i>missense</i> detetadas no gene ALMS1.....	23
Tabela 4.1.5.1 - Variantes detetadas no gene BBS1	25
Tabela 4.1.6.1 - Variantes detetadas no gene BBS2.....	26
Tabela 4.1.8.1 - Variantes detetadas no gene BBS4.....	27
Tabela 4.1.10.1 - Variantes detetadas no gene BBS6/MKKS	28
Tabela 4.1.13.1 - Variantes detetadas no gene BBS9.....	29
Tabela 4.1.16.1 - Variantes detetadas no gene BBS12.....	30
Tabela 4.1.18.1 - Variantes detetadas no gene BBS14/CEP290.....	32
Tabela 4.1.19.1 - Variantes detetadas no gene BBS15.....	33
Tabela 4.1.21.1 - Variantes detetadas no gene BDNF	33
Tabela 4.1.28.1 - Variantes detetadas no gene IGF2R que constituem potenciais variantes de risco	36
Tabela 4.1.29.1 - Variantes detetadas no gene IRS1	37
Tabela 4.1.32.1 - Variantes detetadas no gene LEP	38
Tabela 4.1.33.1 - Variantes detetadas no gene LEPR.....	39
Tabela 4.1.34.1 - Variantes identificadas no gene LRP2 que constituem potenciais variantes de risco para obesidade.....	40
Tabela 4.1.35.1 - Variantes detetadas no gene MAGEL2.....	40
Tabela 4.1.37.1 - Variantes detetadas no gene MC4R	41
Tabela 4.1.38.1 - Variantes detetadas no gene MCHR1	41
Tabela 4.1.42.1 - Variantes detetadas no gene NPY.....	42
Tabela 4.1.43.1 - Variante detetada no gene NPY1R.....	43
Tabela 4.1.45.1 - Variantes detetadas no gene NPY1R	43
Tabela 4.1.47.1 - Variantes detetadas no gene PCK1.....	44
Tabela 4.1.48.1 - Variantes detetadas no gene PCSK1	45
Tabela 4.1.49.1 - Variantes detetadas no gene POMC	45
Tabela 4.1.50.1 - Variantes detetadas no gene PPARG.....	46
Tabela 4.1.52.1 - Variantes detetadas no gene SH2B1.....	46
Tabela 4.1.53.1 - Variantes detetadas no gene SIM1.....	47
Tabela 4.1.56.1 – Novas variantes detetadas no gene SORCS1	48

Tabela 4.1.57.1 - Variantes detetadas no gene SPG1 que constituem potenciais variantes de risco com associação a obesidade.....	48
Tabela 4.1.59.1 - Variantes detetadas no gene THRB	49
Tabela 4.1.60.1 – Novas variantes detetadas no gene TMEM67	49
Tabela 4.1.60.2 - Variante detetada no gene TMEM67, considerada potencial variante de risco com associação a obesidade.....	50
Tabela 4.1.63.1 - Variantes patogénica identificada no gene UCP3.....	50
Tabela 4.2.1.1 – Nº de variantes identificadas por consequência. Identificação do nº de variantes com prevalência europeia no <i>1000 Genomes</i> <1%.....	51
Tabela 4.2.1.2 – Em função da associação clínica apresentam-se o nº de variantes diferentes identificadas (baseado na informação <i>ClinVar</i> e na bibliografia consultada), o nº absoluto de variantes nas amostras em estudo e o nº de amostras afetadas.	52
Tabela 4.2.1.3 – Variantes provavelmente patogénicas, patogénicas ou que constituem um fator de risco para o fenótipo em estudo, segundo o <i>ClinVar</i>	52
Tabela 4.2.3.1 – Potenciais alelos de risco com associação a obesidade	54
Tabela 4.2.3.2 – Variantes identificadas em que a frequência do alelo menor na amostra é inferior à frequência europeia e global, segundo o <i>1000 Genomes</i>	54
Tabela 4.3.1 – Variantes identificadas por amostra	56
Tabela 4.3.2 – Variantes patogénicas ou provavelmente patogénicas identificadas nas amostras em estudo.....	57

Índice de Gráficos

Gráfico 4.2.2.1 – Nº de amostras onde foram detetadas variantes, por gene.....	53
Gráfico 4.2.2.2 – Total de variantes detetadas, por gene, em %..	53

ABREVIATURAS

B – Benigna
BMI – Índice de Massa Corporal / *Body Mass Index*
Freq. – Frequência na Amostra em estudo
Freq. Eur. – Frequência Europeia segundo o projeto *1000 Genomes*
Freq. Gl. – Frequência Global segundo o projeto *1000 Genomes*
GWAS – *Genome Wide Association Studies*
He – Número de amostras em Heterozigotia
Hem – Número amostras em Hemizigotia
Ho – Número de amostras em Homozigotia
IPC – Variante com Interpretações de Patogenicidade Contraditórias
MNP – *Multiple Nucleotide Variant*
Nº - Número
NGS – *Next Generation Sequencing*
NR – Não reportada
P – Variante Patogénica
PB – Variante Provavelmente Benigna
PCR – *Protein Chain Reaction*
Possiv. – Possivelmente
Prov. - Provavelmente
PP – Variante Provavelmente Patogénica
RF – Fator de Risco
VUS – Variante de Significado Incerto / *Variant of uncertain significance*
SMB – *Streptavidin Magnetic Beads*
SNV – *Single Nucleotide Variant*
SPB – *Sample Purification Beads*
WES – *Whole Exome Sequencing*

1. Enquadramento teórico

A obesidade é uma doença complexa, a nível molecular e clínico, que afeta cada vez mais indivíduos, constituindo um problema de saúde pública em crescimento. Dados de 2016, da Organização Mundial de Saúde (OMS), referem que em 2016 mais de 650 milhões de adultos (13% da população mundial) seriam obesos e 1.9 biliões (39% da população mundial) teriam excesso de peso.(1) Em Portugal, estima-se que, em 2015, 28.7% da população adulta seria obesa (25-74 anos).(2)

A OMS define obesidade como a acumulação de gordura anormal ou em excesso, que pode prejudicar a saúde.(1) Associadas à obesidade surgem outros distúrbios metabólicos, como diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão, doenças cardiovasculares e até determinados tipos de cancro. O aparecimento destas co-morbilidades severas é responsável pelo aumento do risco de mortalidade nestes indivíduos.(3)(4)

A medida utilizada mundialmente para o diagnóstico de obesidade é ainda o índice de massa corporal (BMI), calculado com base no peso e altura de um indivíduo (quociente entre o peso, em kg, e o quadrado da altura, em metros). Para os adultos, um BMI igual ou superior a 25 kg/m² e inferior a 30 kg/m² equivale a excesso de peso, e um BMI igual ou superior a 30 kg/m² corresponde a obesidade. No entanto, é necessário algum cuidado na utilização desta fórmula, pois ela não reflete a quantidade de massa gorda do indivíduo.(1)

A suscetibilidade para a obesidade é heterogénea sendo possível distinguir, a nível genético, obesidade síndrómica, obesidade monogénica não síndrómica e obesidade poligénica ou multifatorial.

Na obesidade síndrómica, que apenas justifica uma pequena percentagem dos casos de obesidade, a obesidade constitui, não a causa, mas sim uma das características fenotípicas de doenças síndrómicas, nomeadamente a síndrome de Prader-Willi, a síndrome de Bardet-Biedl ou a osteodistrofia hereditária de Albright. A acompanhar a obesidade surgem habitualmente problemas cognitivos, dismorfismos e distúrbios específicos de órgão.(5)

Os casos de obesidade monogénica não síndrómica são também raros, justificando menos de 5% dos diagnósticos na Europa.(6) A obesidade monogénica não síndrómica pode ter uma hereditariedade dominante ou recessiva, resultando de uma mutação patogénica em genes com um papel essencial na manutenção da homeostasia energética, participando na via de sinalização leptina-melanocortina. Estes incluem os genes LEP, LEPR, MC4R, POMC e PCSK1, sendo que uma mutação com perda de função num destes genes, em homozigotia, causará disrupção nesta via de sinalização, resultando em obesidade monogénica.(3)(5)(6) Atualmente, encontram-se registadas nas bases de dados *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ClinVar/>) e *Ensembl*

(<https://www.ensembl.org>) cerca de 140 variantes nestes genes, associadas a obesidade monogénica não-sindrómica.

A maioria das vezes, a obesidade tem uma origem poligénica e multifatorial. Poligénica, resultando da presença de várias variantes comuns, que quando isoladas têm pouco impacto metabólico, mas que juntas aumentam a suscetibilidade para o aumento de peso.(7) Multifatorial, por estar relacionada não só com fatores genéticos predisponentes, mas também ao ambiente “obesogénico”, isto é, surgindo associada ao estilo de vida sedentário (desequilíbrio entre o *in take* e o dispêndio energético) e a fatores sociais e culturais. Estes fatores não genéticos, como a nutrição e a atividade física, parecem ter também um impacto na modulação da atividade dos genes, por alteração nas assinaturas epigenéticas.(5)

Assim, a identificação das variantes associadas à obesidade é de extrema relevância para o diagnóstico diferencial, para a seleção de tratamento nestes doentes, e para o diagnóstico pré-natal em famílias em que existe uma mutação conhecida.

O desenvolvimento de estudos GWAS (*Genome Wide Association Studies*), possibilitado pelo aparecimento de tecnologias de sequenciação massiva, cada vez mais acessíveis e precisas, aumentou drasticamente a velocidade de descoberta de novas variantes, associadas a doenças mendelianas ou doenças poligénicas.(8)

A NGS (*Next Generation Sequencing*) é um método que tem a capacidade de sequenciar milhões de fragmentos de DNA simultaneamente, permitindo assim estudar vários genes ou regiões, num único teste. A capacidade desta tecnologia sequenciar muitas amostras simultaneamente permite a redução de custo e tempo.(9) São passíveis de ser realizados estudos mais abrangentes, por exemplo *whole-genome*, ou estudos *targeted*. A utilização de painéis de genes específicos torna-se especialmente vantajosa quando o objetivo é realizar um estudo dirigido a uma patologia específica, para a qual já são conhecidas associações com genes ou regiões afetadas.

A tecnologia de sequenciação massiva continua em pleno desenvolvimento e expansão, tendo como principal objetivo diminuir as atuais limitações, nomeadamente procurando aumentar a sensibilidade analítica na deteção de variantes e alargar o seu espectro de ação a áreas do genoma que são ainda difíceis de sequenciar. Novas estratégias bioinformáticas têm também vindo a ser desenvolvidas no sentido de facilitar a interpretação dos dados e reduzir potenciais erros.(9)

São vários os estudos publicados, utilizando esta nova tecnologia, e que têm vindo a permitir descortinar mais um pouco acerca da etiologia da obesidade. Apresentam-se em seguida alguns exemplos, onde é possível constatar que foram utilizadas diferentes abordagens, olhando para a obesidade de uma forma mais abrangente ou mais dirigida, seja pela seleção do número de genes testados, pelo tamanho da amostra ou pela utilização ou não de grupos controlo.

Em 2014, Gill et al. realizaram um estudo WES (*Whole Exome Sequencing*) em membros de 4 famílias consanguíneas, com obesidade infantil severa, que permitiu descobrir 2 novas variantes *frameshift* no gene LEPR. A seleção de uma amostra familiar e com obesidade infantil extrema, aumenta a probabilidade de encontrar alelos de risco de elevada penetrância, bem como reduzir a heterogeneidade etiológica, uma vez que há menos tempo para fatores externos e ambientais contribuírem para o desenvolvimento de obesidade.(10)

Em 2016 foi realizado um estudo numa população norueguesa, por Nordang et al, onde foi utilizada NGS para sequenciação de cinco genes associados a obesidade monogénica (LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 e POMC), numa amostra composta por 485 pacientes adultos com obesidade mórbida e 327 controlos. Foi identificada associação com obesidade monogénica em 0.8% dos casos (4 indivíduos), relacionada com 4 variantes no gene MC4R classificadas como patogénicas ou provavelmente patogénicas.(11)

Em 2018 foi publicado um estudo, realizado por Foucan et al, com 25 crianças afro-caribenhas obesas, onde foram sequenciados 59 genes. Foi possível identificar mutações patogénicas ou provavelmente patogénicas associadas a obesidade severa em mais de 15% das crianças, tendo sido detetadas 5 mutações raras, em 5 crianças em heterozigotia, nos genes MC4R, SIM1, SH2B1 e NTRK2.(12)

No mesmo ano, foi publicado um estudo realizado por Kleinendorst et al, onde foram estudados 52 genes em 1230 indivíduos obesos. Em 48 indivíduos (3.9%) foram detetadas variantes patogénicas, 18 das quais relacionadas com o gene MC4R. Noutros 67 pacientes (5.4%) foram detetadas variantes provavelmente patogénicas, constituindo assim também um possível diagnóstico nestes indivíduos.(13)

Apesar de todos os estudos investigacionais já realizados, a etiologia da obesidade ainda está longe de ser totalmente compreendida. O desenvolvimento de mais estudos, com o intuito de identificar novos genes e variantes implicados na regulação do peso corporal e obesidade, e de estudar a sua prevalência na população, permitirá caminhar para um futuro em que o diagnóstico será mais facilitado e o acompanhamento destes pacientes será cada vez mais personalizado e eficaz.

1.1. Painel de genes

O presente estudo adotou uma estratégia *targeted*, para identificar a existência de variantes genéticas associadas ao desenvolvimento de obesidade numa população portuguesa.

Foi utilizado um painel de 65 genes associados a obesidade, representado na tabela 1.1.1. Em alguns casos, ainda não estão totalmente compreendidos os mecanismos responsáveis pela associação genótipo-fenótipo.

Tabela 1.1.1 – Painel de genes associado à obesidade utilizado neste estudo e sua localização citogenética

Gene	Localização citogenética	Gene	Localização citogenética	Gene	Localização citogenética
ADRB1	10q25.3	CPE	4q32.3	NTRK2	9q21.33
ADRB2	5q32	FTO	16q12.2	PAX6	11p13
ADRB3	8p11.23	G6PC	17q21.31	PCK1	20q13.31
ALMS1	2p13.1	GNAS	20q13.32	PCSK1	5q15
BBS1	11q13.2	IGF2	11p15.5	PHF6	Xq26.2
BBS2	16q13	IGF2R	6q25.3	POMC	2p23.3
BBS3/ARL6	3q11.2	IRS1	2q36.3	PPARG	3p25.2
BBS4	15q24.1	IRS2	13q34	PRKAR1A	17q24.2
BBS5	2q31.1	IRS4	Xq22.3	PTEN	10q23.31
BBS6/MKKS	20p12.2	LEP	7q32.1	SH2B1	16p11.2
BBS7	4q27	LEPR	1p31.3	SIM1	6q16.3
BBS8/TTC8	14q31.3	LRP2	2q31.1	SLC6A14	Xq23
BBS9	7p14.3	MAGEL2	15q11.2	SNRPN	15q11.2
BBS10	12q21.2	MC3R	20q13.2	SORCS1	10q25.1
BBS11/TRIM32	4q27	MC4R	18q21.32	SPG11	15q21.1
BBS12	4q27	MCHR1	22q13.2	TBX3	12q24.21
BBS13/MKS1	17q22	MKRN3	15q11.2	THRB	3p24.2
BBS14/CEP290	12q21.32	NDN	15q11.2	TMEM67	8q22.1
BBS15/WDPCP	2p15	NEGR1	1p31.1	UCP1	4q31.1
BBS17/LZTFL1	3p21.31	NPY	7p15.3	UCP2	11q13.4
BDNF	11p14.1	NPY1R	4q32.2	UCP3	11q13.4
CCDC28B	1p35.2	NPY2R	4q32.1		

1.1.1. Genes ADRB1, ADRB2 e ADRB3

Estes genes codificam os recetores adrenérgicos β_1 , β_2 e β_3 . Componentes essenciais do sistema nervoso simpático, estes recetores medeiam os efeitos das catecolaminas endógenas, a epinefrina e a norepinefrina, componentes de vias de sinalização que regulam os gastos energéticos e a lipólise.(14) Os recetores β_1 e β_3 desempenham um papel essencial na lipólise no tecido adiposo e os recetores β_2 na glicogenólise e gluconeogénese no fígado e no tecido adiposo.(15) Desta forma, polimorfismos nestes

genes têm vindo a ser associados a obesidade, doenças cardiovasculares, asma e doença pulmonar crónica obstrutiva, diabetes *mellitus* tipo II e resposta a fármacos.(16)

1.1.2. Gene ALMS1

O gene ALMS1 codifica uma proteína (*centrosome and basal body associated protein*) que se localiza na base dos centríolos. Em estudos recentes, foi reportada também a presença de diferentes isoformas desta proteína fora do centrossoma, que parecem estar envolvidas no tráfego endossomal, na organização da actina, na manutenção da coesão do centrossoma e na transcrição.(17)

Variantes neste gene, podem estar relacionadas com a Síndrome de Alstrom, uma ciliopatia rara, de transmissão recessiva, que pode afetar vários órgãos e cujas características principais são obesidade infantil, resistência à insulina, complicações oculares e auditivas, e cardiomiopatia dilatada com falência cardíaca congestiva.(17)(18)

1.1.3. Genes BBS

No grupo de genes BBS estão incluídos os genes que codificam as seguintes proteínas associadas ao transporte ciliar: proteínas do complexo BBSsoma (BBS1, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS8/TTC8, BBS9, BBS17/LZTFL1), proteínas do complexo *chaperone* que estabiliza as proteínas que formam o BBSsoma (BBS6/MKKS, BBS10, BBS12), proteínas “controlo” da zona de transição na entrada para o cílio (BBS13/MKS1, BBS14/CEP290, BBS15/WDPCP), e da proteína que recruta o BBSsoma (BBS3/ARL6).(19)

No grupo de genes BBS encontra-se ainda incluído o gene BBS11/TRIM32, que codifica uma proteína que atua como uma E3-ubiquitina ligase, promovendo a degradação de vários alvos proteicos, e que se encontra implicada na diferenciação neuronal, diferenciação miogénica e recuperação muscular após atrofia.(20)

Variantes nestes genes são associadas ao Síndrome de Bardet-Biedl, doença que pode ser transmitida de uma forma autossómica recessiva, mas que alguns estudos apontam também para uma “transmissão digénica” ou “hereditariedade trialélica”.(18) Isto significa que é necessária a presença de 3 variantes patogénicas, duas num mesmo *locus* e uma terceira num *locus* diferente. Esta forma de hereditariedade pode justificar a enorme heterogeneidade de fenótipos em pacientes com Síndrome de Bardet-Biedl. A obesidade é a 2ª característica mais frequente em pacientes com Síndrome de Bardet-Biedl, o que relaciona a importância das proteínas BBS com a regulação energética.(21)

1.1.4. Genes BDNF e NTRK2

Estes genes codificam o fator neurotrófico derivado do cérebro e o recetor neurotrófico tirosina-quinase tipo 2, associados à neurogénese e à plasticidade sináptica, e que participam na regulação do apetite.(22) Variantes nestes genes podem estar associadas a obesidade severa, hiperfagia, atraso de desenvolvimento e problemas cognitivos.(8)

1.1.5. Gene CCDC28B

A proteína *coiled-coil domain containing 28B* é codificada pelo gene CCDC28B. Esta proteína está envolvida na ciliogénese e interage com várias proteínas da família BBS. A associação de variantes neste gene a outras variantes nos genes BBS, é responsável por apresentações mais severas da Síndrome de Bardet-Biedl, síndrome em que a obesidade faz parte do fenótipo.(23)

1.1.6. Gene CPE

Este gene codifica a carboxipeptidase E, proteína que pode existir na forma solúvel, estando envolvida na biossíntese de neuropéptidos e hormonas peptídicas, nomeadamente a insulina, ou na sua forma membranácea, funcionando como um recetor seletivo de algumas prohormonas e proneuropéptidos, tendo um papel importante na internalização destas proteínas, no transporte vesicular e na regulação de vias de sinalização e neuroprotecção.(24)

Variantes neste gene podem estar associadas a diabetes, obesidade, infertilidade, diminuição da densidade óssea, problemas gastrointestinais e doenças neurodegenerativas.(24)

1.1.7. Gene FTO

O gene FTO (*fat mass and obesity associated gene*) foi o primeiro gene associado à obesidade identificado em estudos GWAS e provavelmente um dos mais importantes contribuidores para a obesidade poligénica. Este gene codifica uma RNA demetilase que atua como um regulador da adipogénese e da homeostase energética, tendo assim uma influência provável na sensação de fome ou saciedade. Está também associado ao aumento de risco para diabetes *mellitus* tipo 2, falência cardíaca, doença cardíaca coronária, hipertensão, dislipidemia e síndrome metabólica.(26)

1.1.8. Genes G6PC e PCK1

Os genes G6PC e PCK1 estão relacionados com a gluconeogénese. A transcrição destes genes a nível hepático, é inibida pela insulina com o objetivo de suprimir a gluconeogénese, processo enzimático responsável por assegurar a disponibilidade de glucose durante períodos de jejum.(27)

Variantes detetadas nestes genes estão associadas, respetivamente, a doença do armazenamento do glicogénio tipo 1A e a deficiência de fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PCK1). Pacientes com estas patologias apresentam baixa tolerância ao jejum, sendo que a forma de prevenir episódios de hipoglicémia consiste em aumentar o número de refeições. O não acompanhamento destes pacientes pode conduzir à obesidade.(28)(29)

1.1.9. Gene GNAS

O GNAS é um gene complexo, sujeito a mecanismos de *imprinting*, que codifica vários transcritos. A sua expressão pode ser bialélica, exclusivamente materna ou exclusivamente paterna. Variantes associadas a perda de função neste gene estão associadas ao desenvolvimento de pseudohipoparatiroidismo e Osteodistrofia Hereditária de Albright, síndrome caracterizada por obesidade, défice de crescimento ou cognitivo, ossificação heterotrópica e braquidactilia.(30)

1.1.10. Genes IGF-2 e IGF-2R

O gene IGF-2 codifica o fator de crescimento semelhante à insulina 2, uma proteína que parece regular o crescimento, diferenciação e metabolismo celular. A transcrição deste gene é regulada por um mecanismo epigenético, o *imprinting*, sendo expresso na maioria dos tecidos apenas o alelo paterno. No fígado a expressão deste gene é bialélica.(31) As concentrações desta proteína no soro parecem aumentar na obesidade, correlacionando-se positivamente com o BMI, sendo este aumento de concentração uma resposta fisiológica ao aumento do importe calórico para consequente promoção do armazenamento de energia.(31)

O gene IGF-2R codifica um recetor monomérico transmembranar, onde se liga o IGF-2. Esta ligação resulta na sinalização para degradação deste fator de crescimento, sendo que a disrupção deste processo conduz a um aumento de IGF-2. O gene IGF-2R é também regulado por um mecanismo de *imprinting*, no entanto, e ao contrário do gene IGF-2, é expresso o alelo materno.(32)

Variantes comuns no gene IGF-2 parecem aumentar a suscetibilidade para hipertensão, obesidade, dislipidemia e síndrome metabólico. Variantes no gene IGF-2R foram já reportadas com associação ao desenvolvimento e severidade de síndrome metabólico.(33)

1.1.11. Genes IRS1, IRS2 e IRS4

Os genes IRS1, IRS2 e IRS4 codificam 3 proteínas citoplasmáticas, os substratos 1, 2 e 4 do recetor da insulina, que participam nas vias de sinalização da insulina e do IGF-1. Variantes nestes genes afetam o peso corporal, a sensibilidade à insulina e a tolerância à glucose, podendo assim estar relacionadas com alterações a nível do peso e com o desenvolvimento de obesidade.(34)

1.1.12. Genes LEP, LEPR, PCSK1, POMC e MC4R

Os genes LEP, LEPR, PCSK1, POMC e MC4R, estão relacionados com a via de sinalização leptina-melanocortina. Esta via de sinalização tem um papel essencial na regulação da homeostase energética. A leptina, proteína codificada pelo gene LEP, é secretada pelos adipócitos, em resposta ao armazenamento energético. Esta proteína

liga-se aos recetores da leptina (codificados pelo gene LEPR) no hipotálamo estimulando a clivagem dos péptidos pro-opiomelanocortina (codificados pelo gene POMC) em ACTH, pela pro-hormona convertase 1 (codificada pelo gene PCSK1). Pela ação da carboxipeptidase E, a ACTH é clivada em α -MSH, que se irá ligar aos recetores MC4R (codificados pelo gene MC4R), induzindo a saciedade.(35)(36)

Mutações nos genes LEP e LEPR estão associadas a obesidade mórbida, e habitualmente resultam em rápido aumento de peso no 1º ano de vida, hiperfagia severa e hipogonadismo hipogonadotrófico. As manifestações clínicas resultantes do défice de leptina podem ser revertidos com terapia à base de leptina.(3)(37)

Pacientes com mutações no gene POMC podem apresentar hipocortisolismo, hipopigmentação da pele e cabelo, hipoglicemia neonatal, convulsões, colestase e hiperfagia. A deficiência em POMC conduz também a um aumento da mortalidade fetal.(37)

Mutações no gene PCSK1 estão associadas a obesidade monogénica de transmissão autossómica dominante ou recessiva, dependendo se a mutação implicar uma perda parcial ou total de função. Portadores de mutações neste gene apresentam também hiperfagia, hipoglicemia, hipogonadismo hipogonadotrófico, hipocortisolismo, níveis plasmáticos de pro-insulina elevados e de insulina diminuídos.(3)(37)

As mutações no gene MC4R são as mais comumente associadas à obesidade grave e de início precoce. Portadores de mutações patogénicas no MC4R apresentam, além da obesidade severa, hiperinsulinemia com euglicemia e maior prevalência de síndrome metabólico.(4)

Mutações em homozigotia nestes genes, com perda de função, resultam em obesidade monogénica não sindrómica com penetrância completa. Variantes em heterozigotia estão associadas a 2-3% dos casos de obesidade poligénica, de severidade variável, dependente também de fatores ambientais.(5)

1.1.13. Gene MC3R

O gene MC3R codifica outro recetor da melanocortina, expresso nos neurónios POMC e AgRP, e que se acredita ter um papel importante na homeostase energética, na manutenção do ritmo circadiano e na adaptação ao jejum.(38) Variantes neste gene podem estar associadas a obesidade infantil e resistência à insulina.(39)

1.1.14. Gene LRP2

O gene LRP2 codifica o recetor da lipoproteína de baixa densidade 2 e participa numa via de sinalização que age nos neurónios hipotalâmicos, regulando o apetite. Variantes neste gene, de hereditariedade autossómica dominante, estão associadas a obesidade infantil, atraso na puberdade, hipotiroidismo, resistência à insulina e hiperprolactinemia.(40)

1.1.15. Genes MAGEL2, MKRN3, NDN e SNURF-SNRPN

Os genes MAGEL2, MKRN3, NDN e SNURF-SNRPN estão localizados no cromossoma 15, na região PWS (15q11.2), região associada à Síndrome de Prader-Willi. A expressão dos genes presentes nesta região é regulada por mecanismos de *imprinting*, encontrando-se os alelos maternos silenciados. A Síndrome de Prader-Willi, é a causa de obesidade sindrômica mais comum, caracterizando-se por hipotonia neonatal, dificuldades de alimentação na primeira infância, baixa estatura, problemas comportamentais, cognitivos e endocrinológicos, e hiperfagia que evolui com o crescimento, resultando em obesidade severa e, em alguns casos, também em Diabetes mellitus tipo 2.(41)

O gene MAGEL2, composto por um só exão codifica uma proteína, pertencente à família de proteínas MAGE, e que desenvolve um papel celular fundamental na reciclagem de proteínas membranares dos endossomas, regulando assim a disponibilidade de recetores na superfície celular, nomeadamente do recetor da leptina. A mediar a interação do recetor da leptina com o MAGEL2, encontra-se a necdina, codificada pelo gene NDN.(42)(43)

O gene MKRN3, que codifica a proteína *makorin ring finger protein 3*, é um gene também sem intrões e encontra-se associado ao desenvolvimento da puberdade, sendo que a perda de função deste gene resulta em puberdade precoce.(44)

O gene SNURF-SNRPN é especialmente expresso nos neurónios, tendo um papel essencial no processamento do pré-mRNA e no *splicing* alternativo.(45)

1.1.16. Gene MCHR1

O gene MCHR1 codifica o recetor da hormona concentradora da melanina 1, que é ativado pelo neuropéptido MCH, estando associado à regulação hipotalâmica do apetite. Polimorfismos encontrados neste gene parecem ter influência na composição corporal, no entanto, os resultados de estudos que procuram verificar a sua associação com obesidade são inconsistentes.(47)

1.1.17. Gene NEGR1

A proteína humana reguladora do crescimento neuronal 1 é codificada pelo gene NEGR1. Esta proteína parece estar associada à manutenção da homeostasia do colesterol intracelular (por interação com o NPC2), podendo ser este o mecanismo molecular que explica o seu envolvimento na obesidade humana.(48)

1.1.18. Genes NPY, NPY1R e NPY2R

Os genes NPY, NPY1R e NPY2R codificam respetivamente o neuropéptido Y e os recetores do neuropéptido Y 1 e 2. Este neuropéptido, que atua como um estimulador do apetite, é libertado pelos neurónios do núcleo arqueado hipotalâmico, em resposta ao jejum e à hipoglicemia. A leptina é inibidora da sua libertação.(14)(49)

Variantes identificadas no gene NPY podem estar associadas a obesidade, hipertensão, níveis plasmáticos de LDL-c elevados e também a doença arterial coronária.(14)

Estudos realizados em cobaias, em que foi promovido o *knockout* de vários genes, nomeadamente os genes NPY1R e NPY2R, demonstraram a sua potencial associação com obesidade.(50)

1.1.19. Gene PAX-6

O gene PAX-6 codifica uma proteína, a *paired box 6*, um fator de transcrição altamente conservado de 422 aminoácidos, com um papel essencial no desenvolvimento do sistema nervoso central e tecidos oculares, nariz, pâncreas e glândula pituitária.(51) A deleção deste gene localizado na região cromossômica 11p13, onde se localiza também o gene WT1, está associada ao desenvolvimento da Síndrome WAGR (tumor de Wilms, anomalias geniturinárias, aniridia e atraso mental), em que a obesidade faz parte do fenótipo.(14)

1.1.20. Gene PPH6

A *PHD finger protein 6* é codificada por este gene, localizado no cromossoma X. Esta proteína desempenha um papel importante na regulação da neurogênese e da hematopoiese. Mutações no gene PPH6 foram encontradas em famílias afetadas pela Síndrome de Borjeson-Forssman-Lehmann, no entanto, nem todos os pacientes apresentam mutações neste gene. Esta síndrome é caracterizada por obesidade, atraso mental moderado a severo, microcefalia, epilepsia, hipogonadismo e ginecomastia marcada.(37)(49)

1.1.21. Gene PPAR γ

A proteína PPAR- γ é codificada por este gene, constituindo um recetor nuclear que regula a diferenciação dos adipócitos, sendo associada ao aumento de BMI, obesidade e a diabetes.(4)

1.1.22. Gene PRKAR1A

Este gene codifica a subunidade reguladora α -1 da proteína quinase A dependente do cAMP, que desempenha um papel importante na homeostase energética e no metabolismo dos lípidos.(52) Variantes neste gene podem ser associadas a acrodisostose, uma displasia esquelética caracterizada por baixa estatura, braquidactilia severa e hipoplasia nasal, muitas vezes acompanhada de obesidade e idade óssea avançada.(53)

1.1.23. Gene PTEN

A fosfatase PTEN é codificada por este gene e desempenha um papel importante de supressor tumoral e também de regulador no metabolismo da glucose e dos lípidos.(54) Variantes neste gene estão associadas ao aumento do risco de desenvolver obesidade.(55)

1.1.24. Gene SH2B1

A proteína SH2B1 é uma proteína citoplasmática que modula a sinalização da leptina-melanocortina. Variantes *frameshift* em heterozigotia e variantes *missense* têm sido associadas a hiperfagia, obesidade monogénica, resistência à insulina e alterações comportamentais, que incluem isolamento social e agressividade.(40)

1.1.25. Gene SIM1

Este gene é essencial durante a neogénese e codifica um dos efetores que parece atuar a *upstream* e *downstream* da MC4R, contribuindo também assim para a manutenção da homeostasia energética. Variantes neste gene podem resultar em obesidade hiperfágica severa, hipotonia e atraso do desenvolvimento.(37)(56)

1.1.26. Gene SLC6A14

Este gene codifica uma proteína transportadora de aminoácidos (*solute carrier family 6 member 14*) que regula a acessibilidade do triptofano na síntese da serotonina, podendo assim afetar o controlo do apetite e o balanço energético, e estar associado ao desenvolvimento de obesidade.(57)

1.1.27. Gene SORCS1

Este gene codifica o recetor SORCS1 (*sorting-related receptor CNS expressed 1*), que está envolvido no controlo metabólico, nomeadamente a nível hipotalâmico através da regulação da produção de péptidos orexigénicos e também como responsável pelo abastecimento dos grânulos secretórios de insulina das células β . Variantes estão associadas ao desenvolvimento de Diabetes *mellitus* tipo 1 e 2, bem como ao aumento da adiposidade.(58)

1.1.28. Gene SPG11

Este gene codifica uma proteína, a *spatacsin*, envolvida no mecanismo da recuperação autofágica de lisossomas, isto é, da reciclagem dos seus componentes membranares. A perda de função desta proteína conduz à acumulação de lípidos lisossomais e disrupção da homeostasia do cálcio. Mutações no gene SPG11 são responsáveis por formas severas de paraplegia espástica hereditária, caracterizada por fraqueza bilateral,

espasticidade dos membros inferiores, ataxia e problemas cognitivos.(59) Um estudo recente adicionou a esta lista de características fenotípicas um novo conjunto de sinais e sintomas que caracterizam o decurso da patologia e que incluem mutismo, psicose, disfagia e obesidade.(60)

1.1.29. Gene THRB

Este gene codifica dois fatores de transcrição dependente de ligando, o THRB1 e o THRB2, responsáveis por mediar a ação da hormona tiroideia que é essencial para o normal desenvolvimento intrauterino e pós-natal, crescimento e metabolismo. Variantes neste gene causam resistência à hormona da tiróide e conseqüente distúrbio no eixo hipotálamo-hipófise-tiroide, podendo esta perda de homeostasia contribuir para o desenvolvimento de Diabetes do tipo 2, obesidade, doença cardiovascular e alguns tipos de cancro.(61)

1.1.30. Gene TBX3

Este gene codifica uma proteína da família dos fatores de transcrição *T-box*, e que desempenha um papel crítico na regulação do desenvolvimento do coração, glândulas mamárias, membros e pulmões. Esta proteína aparece muitas vezes sobreexpressa em tecidos tumorais epiteliais e mesenquimais, reprimindo diretamente a expressão de alguns supressores tumorais. A TBX3 é também expressa nos neurónios do núcleo arqueado hipotalâmico (neurónios *Agrp* e *POMC*). A disfunção destes neurónios, está relacionado com desequilíbrio energético e obesidade. (62)

1.1.31. Gene TMEM 67

Este gene codifica uma proteína presente no módulo MKS-JBTS, localizado na zona de transição, na base dos cílios. Este conjunto de proteínas atuam como uma barreira de difusão, restringindo a passagem de proteínas membranares e solúveis. Variantes neste gene são associadas a aumento do BMI e obesidade extrema.(8)(63)

1.1.32. Genes UCP1, UCP2 e UCP3:

Os genes UCP1, UCP2 e UCP3 codificam as proteínas *uncoupling*, que desempenham um papel crucial na regulação dos mecanismos de oxidação e fosforilação na mitocôndria. (64) Variantes nos genes UCP encontram-se associadas a aumento de BMI e a obesidade.(65)(66)

2. Objetivo

Identificar variantes genéticas associadas ao desenvolvimento de obesidade, numa população portuguesa, utilizando um painel de 65 genes (exões e junções exão-intrão) previamente identificados como fatores de risco para o seu desenvolvimento. Reconhecer as potenciais mutações associadas à obesidade monogénica e os polimorfismos de risco associados à obesidade.

3. Metodologia

Para a realização deste estudo foram recolhidas amostras de células do epitélio bucal, com zaragatoa, de 72 indivíduos seguidos na consulta de obesidade do Centro Hospitalar Lisboa Central (Hospital Curry Cabral), para posterior sequenciação de um painel de 65 genes por NGS.

A recolha das amostras foi posterior à assinatura individual do consentimento informado (Anexo I).

O processamento das amostras iniciou-se com a extração do DNA recorrendo ao *kit ExtractMe®* da BLIRT SA. O sucesso da extração foi avaliado através de um método fluorimétrico recorrendo ao equipamento QuBit®.

A concentração mínima pretendida para a posterior preparação das *librarys* foi de 5 ng/μL (50 ng de DNA em 10 μL de volume total). Amostras onde não foi possível obter esta concentração numa 1ª extração, foram sujeitas a um novo processo de extração.

Após obtenção das concentrações desejadas, procedeu-se à preparação das *librarys* com *kit TruSight One®* da *Illumina, Inc.* respeitando o protocolo da casa comercial:

1. Fragmentação e marcação do DNA genómico com adaptadores de sequenciação
2. Limpeza do DNA marcado (remoção do DNA não marcado) utilizando SPB (*sample purification beads*)
3. Amplificação do DNA marcado aplicando um programa de 10 ciclos de PCR (adição de adaptadores Index 1 (i7), Index 2 (i5) e adaptadores de sequenciação)
4. Lavagem do DNA amplificado e posterior verificação das concentrações de DNA nas amostras (equipamento QuBit®) e medição do tamanho dos fragmentos de DNA (por eletroforese capilar no equipamento *Agilent TapeStation 4200*)
5. Hibridação de sondas (combinação de várias amostras em *pool* e marcação de regiões específicas do DNA com sondas de captura)
6. Captura das sondas hibridadas com SMB (*sptreptavidin magnetic beads*)
7. Segunda hibridação de sondas
8. Segunda captura das sondas hibridadas e eluição da *library* (separação das SMB)
9. Purificação da *library* com SPB
10. Amplificação da *library* enriquecida aplicando um programa de 10 ciclos de PCR
11. Lavagem da *library* amplificada com SPB (*sample purification beads*)
12. Verificação das *librarys* enriquecidas (com recurso ao QuBit®, ao *Agilent TapeStation 4200* e a PCR em tempo real)

Posteriormente procedeu-se à preparação do *cartridge* e da *flow cell*, à desnaturação e diluição das *librarys* enriquecidas (para um volume final de 1,3 mL) e sequenciação no equipamento *NextSeq550* da *Illumina, Inc* utilizando o *NextSeq 500/550 High Output Kit v2 (150 cycles)*.

A análise dos dados obtidos iniciou-se com o pré-processamento das sequências, o *variant calling*, em duas aplicações *Enrichment* e *BWA Enrichment* da *Illumina, Inc.* Da aplicação destes *softwares* resultam vários ficheiros e relatórios, nomeadamente, ficheiros BAM onde se encontram as leituras após alinhamento e ficheiros VCF que contêm as variantes identificadas.

Com recurso ao *software Illumina Variant Studio 3.0* foi efetuada a *variant annotation*, a partir dos ficheiros VCF. Apenas variantes detetadas em ambas as aplicações (*Enrichment* e *BWA Enrichment* da *Illumina, Inc.*) e que passaram o filtro PASS do *Illumina Variant Studio 3.0*, foram consideradas para a continuação do estudo. Também só foram consideradas variantes de exão e variantes localizadas na região exão-intrão (até 12 bases).

Para verificação da qualidade das leituras, *coverage* e *read depth*, foram visualizados os ficheiros BAM, recorrendo ao *software IGV – Integrative Genomics Viewer* (disponível em <http://www.broadinstitute.org/igv>).

Para a análise das variantes identificadas, previsão do seu impacto e relevância clínica, foram utilizadas as seguintes ferramentas informáticas/bases de dados:

- O *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ClinVar/>), uma base de dados pública, onde estão reportadas associações entre variantes genéticas humanas e fenótipos, fundamentadas cientificamente.
- O *PolyPhen-2* (genetics.bwh.harvard.edu/pph2/), um *software* disponível *on line*, que permite prever o possível impacto de substituições de aminoácidos na estabilidade e função de proteínas humanas, estimando a possibilidade de variantes *missense* serem danosas. Existem dois classificadores de variantes no *PolyPhen*, o *HumDiv* e *HumVar*. O *HumDiv* é o classificador apresentado por defeito neste estudo, sendo o preferencial para a avaliação de alelos raros. O *HumVar* foi desenhado para as doenças Mendelianas.(67)
- O *Human Splicing Finder* (www.umd.be/HSF/HSF.shtml), uma plataforma disponível *on line*, que permite identificar variantes que potencialmente afetem o *splicing*. Foram testadas todas as variantes de intrão, *missense* e sinónimas localizadas em regiões de *splicing* (1-3 bases do exão, 1-8 bases do intrão)

Para identificação de variantes de risco, as frequências das variantes identificadas neste estudo foram comparadas com prevalências Europeias e Globais dos projetos *1000 Genomes* (<https://www.internationalgenome.org>) e, em alguns casos não reportados, no *TopMed* (<https://www.nhlbiwgs.org/>).

Quando a informação foi insuficiente, foram consultadas outras bases de dados e bibliografia, devidamente referenciada.

3.1. Caracterização da amostra

A amostra em estudo foi composta por 72 indivíduos, 55 do sexo feminino e 17 do sexo masculino, com idades compreendidas entre os 21 e os 67 anos e com um BMI entre os 26.9 e 68.0.

Constatou-se que 2 indivíduos teriam um BMI abaixo de 30, não cumprindo o critério de diagnóstico de obesidade, mas é justificada a sua inclusão no estudo pelo diagnóstico prévio e por se encontrarem em tratamento.

Na amostra, 58 indivíduos têm pelo menos um dos progenitores com obesidade, sendo que de 10 indivíduos não foi possível obter informação sobre histórico familiar.

4. Apresentação e Discussão dos Resultados

Das 72 amostras analisadas, em 8 foi obtido um *coverage* inferior a 80% (amostras 19, 27, 49, 55, 58, 59, 72 e 90). Com exceção da amostra 58, em todas foram detetadas variantes, que passaram no filtro aplicado (filtro PASS – *Illumina Variant Studio*).

A utilização de um método não invasivo para recolha das amostras (amostras de células do epitélio bucal por zaragatoa) foi provavelmente o motivo para o baixo *coverage* detetado nestas amostras. Para a realização da técnica foi necessário obter uma concentração de DNA superior a 5 ng/μL por amostra, o que para algumas amostras só foi possível após uma 2ª extração e eluição. Efetivamente, a eficiência de recuperação e extração de DNA a partir de zaragatoas é normalmente, independentemente do material, inferior a 50%.⁽⁶⁸⁾

Globalmente foram identificadas 429 variantes diferentes, em 63 dos 65 genes em estudo, das quais 423 snv's (*single nucleotide variant*), 1 mnp (*multiple nucleotide variant*), 2 inserções e 3 deleções. Em valores absolutos, foram detetadas 4348 variantes: 4318 snv's, 6 mnp's, 21 inserções e 3 deleções.

Não foram detetadas variantes nos genes PHF6 e PTEN. Após verificação do valor médio de cobertura destas sequências, podemos descartar a suspeita de ineficácia de ligação das sondas de enriquecimento.

No subcapítulo 4.1. são apresentados os resultados por gene, estando registadas as variantes detetadas, a sua consequência, a frequência na amostra em estudo e a frequência Europeia segundo o projeto *1000 Genomes*. Está ainda referida a sua significância clínica, baseada na informação disponível no *ClinVar* e outra bibliografia consultada.

Para o cálculo da frequência amostral das variantes foi considerado um total de 71 amostras (tendo sido excluída a amostra 58). Quando considerado relevante, foi corrigido o valor da frequência amostral, verificando para todas as amostras a cobertura da região em estudo.

Para a identificação de novos potenciais fatores de risco com associação à obesidade foi comparada a frequência das variantes na amostra em estudo, com as frequências Europeia e Global, segundo o *1000 Genomes*. Só foram considerados potenciais alelos de risco aqueles em que a diferença entre a frequência na amostra em estudo e a frequência de referência Europeia e Global fosse igual ou superior 1,41% (o correspondente à proporção de dois alelos na frequência amostral calculada - $2/(2 \times 71)$).

No Anexo II pode ser consultada uma tabela completa, com todas as variantes identificadas neste estudo.

Verificou-se que, muitas vezes, as frequências das variantes na amostra em estudo são consideravelmente inferiores comparativamente às frequências europeias reportadas no

projeto *1000 Genomes*. Para determinar a autenticidade destas diferenças foram analisados os resultados pré-aplicação do filtro PASS no *Illumina Variant Studio* e os ficheiros BAM. Constatou-se que, com exceção de 5 variantes, esta diferença se deve à baixa qualidade das leituras, tendo as variantes detetadas ficado retidas no filtro PASS, ou mesmo, em algumas amostras, à inexistência de cobertura em determinadas regiões. Na análise por gene apenas serão mencionadas as 5 variantes onde a diferença foi confirmada.

No subcapítulo 4.2. serão avaliadas globalmente as variantes identificadas, em função da sua consequência e incidência nos 65 genes, bem como a sua relação com o fenótipo em estudo. Neste subcapítulo, para a análise das frequências de variantes por gene e de número de genes afetados por amostra, as 8 amostras com baixo *coverage* não foram consideradas. Serão também registadas as novas variantes identificadas e as variantes que, em função da frequência amostral, constituem potenciais alelos de risco com associação a obesidade.

No subcapítulo 4.3. será efetuada uma análise por amostra.

4.1. Resultados por Gene

4.1.1. ADRB1

Quarenta e três amostras apresentaram variantes no gene ADRB1.

Foram detetadas 3 snv's diferentes, 1 sinónima e 2 *missense*, representadas na tabela 4.1.1.1.

Tabela 4.1.1.1 - Variantes detetadas no gene ADRB1

dbSNP ID	Variante (NM_000684.2; NP_000675.1)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar	PolyPhen HumDIV
rs140442073	c.228T>C c.228T>C(p.=)	0	1	0.70	0.20	NR	-
rs1801252	c.145A>G p.Ser49Gly	0	4	2.82	12.72	A	Frequência cardíaca em repouso
rs1801253	c.1165G>C p.Gly389Arg	20	22	43.66	68.49	RF	β-bloqueadores

As duas variantes *missense* encontradas (rs1801252 e rs1801253), são os dois polimorfismos mais comuns no gene ADRB1.(15)

Segundo um estudo realizado no Japão, com 188 pacientes Diabéticos Tipo II, o polimorfismo p.Ser49Gly, está associado a BMI mais elevado e obesidade em pacientes com Diabetes Tipo II.(69)

A informação disponível relativa à associação da variante rs1801253 com obesidade é contraditória. Um estudo realizado na universidade de Vermont, em 2002, com 931

mulheres caucasianas, estabeleceu uma associação entre a presença do alelo c.1165C (p.389Arg) com maior peso, BMI e massa gorda em mulheres caucasianas, sendo a frequência de obesos superior nas mulheres onde foi identificada esta variante.(70) Contrariamente em 2007, num estudo realizado com 161 caucasianos e 74 afro-americanos, demonstrou que o alelo c.1165G (p.389Gly) contribui para a obesidade e acompanha alterações metabólicas em indivíduos jovens caucasianos.(71) Dois estudos, realizados na Dinamarca e Arábia Saudita, em 2006 e 2018 respetivamente, concluíram que não existe correlação entre este polimorfismo e o excesso de peso, obesidade ou dislipidemias.(72)(73) Neste estudo, atendendo à baixa qualidade das leituras, não foi possível concluir acerca desta correlação.

4.1.2. ADRB2

No gene ADRB2 foram detetadas 8 snv's diferentes, 4 sinónimas e 4 *missense*. Cinquenta e seis indivíduos apresentaram variantes neste gene.

As 4 variantes sinónimas, rs1042718 (c.523C>A), rs1042717 (c.252G>A), rs1042719 (c.1053G>C) e rs1042720 (c.1239G>A), têm uma frequência europeia superior a 1.00%, e nenhuma se encontra referenciada no *ClinVar*.

As variantes *missense* encontram-se registadas na tabela 4.1.2.1.

Tabela 4.1.2.1 - Variantes *missense* detetadas no gene ADRB2

dbSNP ID	Variante (NM_000024.5; NP_000015.1)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)		<i>ClinVar</i>	<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs1800888	c.491C>T p.Thr164Ile	1	3	3.52	1.79	RF	Diminuição de resposta aos agonistas do β 2-adrenoreceptor	Benigna
rs3729943	c.659C>G p.Ser220Cys	0	1	0.70	0.00	NR	-	Prov. danosa
rs1042713	c.46G>A p.Gly16Arg	12	20	30.99	38.57	RF	G - Síndrome metabólico	Benigna
rs1042714	c.79G>C p.Glu27Gln	31	20	57.75	59.04	RF	G - Síndrome metabólico e obesidade	Benigna

Segundo o *ClinVar*, nas variantes rs1042713 e rs1042714, é o alelo considerado de referência (G) que é o fator de risco associado a Síndrome Metabólico. Após análise dos ficheiros de sequenciação BAM, constatou-se que são portadores do alelo de risco c.46G, 44 indivíduos, dos quais 19 homozigóticos e 25 heterozigóticos, e do alelo de risco c.79G 29 indivíduos, dos quais 7 homozigóticos e 22 heterozigóticos. Sete indivíduos são homozigóticos para os dois alelos de risco.

As diferenças encontradas entre as frequências Europeia (1.79%) e Global (0.40%) da variante *missense* rs1800888, reportada no *ClinVar* com associação à diminuição de resposta aos agonistas do β 2-adrenoreceptor, e a frequência na amostra em estudo

parecem indicar que o alelo c.491T se tratará de um potencial alelo de risco associado à obesidade.

4.1.3. ADRB3

Em 10 amostras foram detetadas variantes no gene ADRB3. Foram identificadas 4 snv's, 3 das quais *missense* e 1 localizada no intrão 1-2, na região *splicing*, representadas na tabela 4.1.3.1.

Das variantes *missense*, uma é considerada segundo o *ClinVar*, como fator de risco para a obesidade e outra, segundo o *PolyPhen* como provavelmente danosa.

Tabela 4.1.3.1 - Variantes detetadas no gene ADRB3

dbSNP ID	Variante (NM_000025.2; NP_000016.1)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs374271379	c.1033A>G p.Ile345Val	0	1	0.70	0.00	NR	-	Prov. danosa
rs4995	c.794C>T p.Thr265Met	0	1	0.70	0.00	NR	-	Benigna
rs4994	c.190T>C p.Trp64Arg	0	10	7.04	8.15	RF	Obesidade	Benigna
rs1056491821	c.1205+3A>G	0	1	0.70	-	NR	-	

A variante de intrão (rs1056491821) foi detetada em um indivíduo, sendo que, segundo o *Human Splicing Finder*, não terá impacto provável no *splicing*. Não existem registos desta variante no *ClinVar* e só existem dados referentes à frequência na população no *TopMed*, sendo a frequência global 0.002%.

4.1.4. ALMS1

No gene ALMS1 foram identificadas variantes em 69 indivíduos. Foram detetadas um total de 50 snv's, das quais 34 *missense*, 15 sinónimas e 1 localizada no intrão 11-12.

Das 15 variantes sinónimas (consultar Anexo II), 10 têm uma frequência europeia inferior a 1.00%, segundo o projeto *1000 Genomes*. Também 10 destas variantes, segundo o *ClinVar*, são consideradas benignas ou provavelmente benignas, estando associadas à Síndrome de Alstrom.

A variante identificada no intrão, rs10199680 (NM_015120.4:c.9779-9C>T), foi detetada em 2 indivíduos em heterozigotia (frequência na amostra - 1.41%), e tem uma frequência Europeia de 0.00% segundo o projeto *1000 Genomes*, no entanto, a frequência Global é de 3.79%. Esta variante é também considerada segundo o *ClinVar* como benigna, estando associada à Síndrome de Alstrom.

Das 34 variantes *missense* identificadas, registadas na tabela 4.1.4.1, 9 estão associadas a Diabetes monogénica e 14 a Síndrome de Alstrom. Segundo o *PolyPhen*, 3 destas variantes são consideradas possivelmente danosas e 9 provavelmente danosas. Uma das

variantes *missense* detetadas (c.5552C>T, p.Pro1851Leu), considerada possivelmente danosa pelo *PolyPhen*, ainda não se encontra registada.

Tabela 4.1.4.1 – Variantes *missense* detetadas no gene ALMS1

dbSNP ID	Variante (NM_015120.4; NP_055935.4)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
-	c.5552C>T p.Pro1851Leu	0	1	0.70	-	NR	-	Possiv. danosa
rs1431117583	c.11455C>T p.Leu3819Phe	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs199572177	c.2149C>T p.His717Tyr	0	1	0.70	-	VUS	Síndrome Alstrom	Benigna
rs745623990	c.4473G>T p.Glu1491Asp	0	1	0.70	-	NR	-	Benigna
rs746923966	c.12373C>T p.Leu4125Phe	0	1	0.70	-	VUS	-	Prov. danosa
rs752623561	c.11362C>T p.Arg3788Trp	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs938557636	c.5782C>T p.Arg1928Trp	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs201028172	c.11408G>C p.Arg3803Thr	0	1	0.70	0.00	VUS	Síndrome Alstrom	Prov. danosa
rs189851617	c.11965C>G p.Pro3989Ala	0	1	0.70	0.20	NR	-	Prov. danosa
rs115444326	c.2035C>G p.Arg679Gly	0	1	0.70	0.00	PB	Diabetes monogénica	Benigna
rs45501594	c.10625C>G p.Thr3542Ser	0	2	1.41	0.30	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Possiv. danosa
rs28730855	c.6749A>G p.Asp2250Gly	0	1	0.70	0.00	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Benigna
rs61741524	c.11818G>A p.Gly3940Ser	0	2	1.41	0.00	B	Síndrome Alstrom	Benigna
rs75145370	c.7265A>G p.Asn2422Ser	0	1	0.70	0.00	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Benigna
rs58093963	c.6461A>G p.Asp2154Gly	0	1	0.70	0.00	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Benigna
rs28730852	c.3190T>C p.Ser1064Pro	0	2	1.41	0.00	B	Síndrome Alstrom	Benigna
rs41291187	c.1868A>G p.His623Arg	0	5	3.52	2.09	B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Benigna
rs45608038	c.5356A>G p.Asn1786Asp	0	1	0.70	1.79	B	Síndrome de Alstrom	Benigna
rs28730854	c.6299C>T p.Ser2100Leu	0	7	4.93	4.97	B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Prov. danosa
rs34071195	c.10300A>G p.Lys3434Glu	0	1	0.70	0.00	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Possiv. danosa

dbSNP ID	Variante (NM_015120.4; NP_055935.4)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs17009061	c.5783G>A p.Arg1928Gln	0	2	1.41	0.79	B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Benigna
rs28730853	c.4959G>T p.Lys1653Asn	0	2	1.41	0.79	B	Diabetes monogénica e Síndrome Alstrom	Prov. danosa
rs10496192	c.6209T>C p.Ile2070Thr	1	19	14.79	16.10	B	-	Benigna
rs3820700	c.7721G>A p.Ser2574Asn	0	16	11.27	12.62	B	-	Prov. danosa
rs20171116	c.8014G>C p.Asp2672His	1	17	13.38	12.62	B	-	Benigna
rs10193972	c.8567A>G p.Asn2856Ser	7	26	28.17	22.66	B	-	Benigna
rs2056486	c.8478G>T p.Arg2826Ser	6	26	26.76	22.66	B	-	Benigna
rs6546838	c.5623A>G p.Ile1875Val	2	13	11.97	22.76	B	-	Benigna
rs3813227	c.1174C>T p.Arg392Cys	6	7	13.38	22.66	B	-	Benigna
rs6546837	c.4241G>C p.Gly1414Ala	2	9	9.15	22.66	B	-	Benigna
rs6724782	c.6333T>A p.Ser2111Arg	6	27	27.46	22.76	B	-	Benigna
rs6546839	c.6851G>C p.Arg2284Pro	6	26	26.76	22.76	B	-	Benigna
rs1052161	c.12086G>A p.Arg4029Lys	8	14	21.13	65.61	B	-	Benigna
rs2037814	c.2012T>G p.Val671Gly	48	17	79.58	87.57	B	-	Benigna

A diferença encontrada entre as frequências Europeia (2.09%) e Global (0.70%) da variante *missense* rs41291187, e a frequência na amostra em estudo (3.52%), parecem indicar que se tratará de um potencial alelo de risco associado à obesidade.

A frequência das variantes rs61741524, rs28730852, rs10193972, rs2056486, rs6724782 e rs6546839 na amostra em estudo é também superior à frequência Europeia segundo o *1000 Genomes*, no entanto, comparando com os valores da frequência Global, são inferiores ou a diferença não tem significado (0.42%, 0.62%, 35.82%, 35.82%, 36.38% e 36.44%, respetivamente).

4.1.5. BBS1

No gene BBS1 foram encontradas variantes em 49 indivíduos. Foram identificadas 9 snv's, das quais 4 sinónimas, 2 *missense*, 1 localizada no intrão 8-9 e 1 localizada no intrão 9-10, ambas na região de *splicing*, e uma na região 3'UTR, registadas na tabela 4.1.5.1.

Tabela 4.1.5.1 - Variantes detetadas no gene BBS1

dbSNP ID	Variante (NM_024649.4; NP_078925.3)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
-	c.1437C>T c.1437C>T(p.=)	0	1	0.70	-	NR	-	
rs147783319	c.1773G>A c.1773G>A(p.=)	0	1	0.70	-	NR	-	
rs373397428	c.1578G>A c.1578G>A(p.=)	0	1	0.70	-	NR	-	
rs3816492	c.1413C>T c.1413C>T(p.=)	1	21	16.20	23.96	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs35520756	c.700G>A p.Glu234Lys	0	1	0.70	0.00	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
rs77298332	c.1349G>A p.Arg450Gln	0	1	0.70	0.00	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs10896125	c.724-8G>C	1	21	16.20	23.96	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs56177555	c.831-5C>T	0	1	0.70	0.00	B	-	
rs8432	c.*7A>G	14	31	41.55	61.33	B	Síndrome de Bardet-Biedl	

Cinco das variantes identificadas, segundo o *ClinVar*, estão associadas à síndrome de Bardet-Biedl, sendo que uma das variantes *missense* apresenta uma previsão *PolyPhen HumDIV* de provavelmente danosa.

Uma das variantes sinónima (c.1437C>T), que foi detetada em heterozigotia na amostra 39, é uma nova variante que ainda não se encontra registada no *ClinVar*.

As variantes identificadas na região de *splicing*, não terão impacto provável no mesmo, segundo o *Human Splicing Finder*.

As prevalências Global e Europeia, segundo o *1000 Genomes*, da variante rs10896125 são de 24.26% e 23.96 %, respetivamente. A frequência na amostra em estudo é 17.90% (valor corrigido, apenas 66 amostras apresentaram leitura), sendo inferior às frequências consideradas de referência. Assim, o alelo c.724-8G constitui um potencial alelo de risco com associação à obesidade.

4.1.6. BBS2

No gene BBS2 foram detetadas alterações em 61 indivíduos.

Estão registadas na tabela 4.1.6.1 as 8 variantes reportadas, 2 snv's sinónimas, 4 snv's *missense*, 1 snv localizada no intrão 13-14, na região de *splicing*, e 1 deleção com alteração de *frameshift*.

Segundo o *ClinVar*, com exceção de uma variante *missense*, as variantes reportadas estão associadas à síndrome de Bardet-Biedl.

Tabela 4.1.6.1 - Variantes detetadas no gene BBS2

dbSNP ID	Variante (NM_031885.3; NP_114091.3)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs773417074	c.627_628delTT p.Cys210SerfsTer20	0	1	0.70	-	PP	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs562585023	c.85C>T p.Pro29Ser	0	1	0.70	0.00	NR	-	Possiv. danosa
rs16957538	c.1511C>T p.Ala504Val	0	1	0.70	0.00	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs11373	c.367A>G p.Ile123Val	1	24	18.31	17.89	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs4784677	c.209G>A p.Ser70Asn	61	0	85.92	99.10	P	G - Síndrome de Bardet-Biedl A - Benigno	Benigna
rs6499838	c.1659+3A>G	0	1	0.70	0.00	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs117033008	c.1422G>A c.1422G>A(p.=)	0	1	0.70	0.10	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs35294865	c.1413A>C c.1413A>C(p.=)	0	2	1.41	1.69	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	

Relativamente à variante rs4784677, o alelo considerado de referência é o G, sendo também este o alelo considerado patogénico para a Síndrome de Bardet-Biedl. A frequência Europeia deste alelo, segundo o *1000 Genomes*, é 0.90%. Para calcular a frequência do alelo G na amostra em estudo, foram verificados os resultados de sequenciação antes da aplicação do filtro PASS no *Illumina Variant Studio*, e os ficheiros BAM, pois alguns alelos A poderiam não ter sido identificados. Assim, chegou-se à conclusão que das 72 amostras sequenciadas, 71 são homocigóticas AA. Para a amostra 58 não foi obtido qualquer resultado, possivelmente devido à má qualidade da amostra. A variante rs6499838, localizada na zona de *splicing*, segundo informação do *Human Splicing Finder*, provavelmente afetará o *splicing*.

4.1.7. BBS3/ARL6

No gene BBS3/ARL6 foram identificadas, em 2 indivíduos, duas snv's, em heterocigotia. Na amostra 20 foi identificada a variante rs375454860 (NM_032146.4:c.350-7C>T), localizada no intrão 5-6. Esta variante não se encontra reportada no *ClinVar* nem registada no *1000 Genomes*, sendo a frequência global segundo o *TopMed* de 0.01%.

Na amostra 32 foi identificada a variante rs77010939 (NM_032146.4:c.480-8C>T), localizada no intrão 6-7, com frequência Europeia, de acordo com o projeto *1000 Genomes*, de 0,00% e classificada, segundo o *ClinVar*, como benigna ou provavelmente benigna, estando associada ao Síndrome de Bardet-Biedl.

Segundo o *Human Splicing Finder*, as variantes não terão impacto provável no *splicing*.

4.1.8. BBS4

No gene BBS4, foram identificadas alterações em 65 amostras (tabela 4.1.8.1), totalizando 6 snv's, das quais 2 sinónimas, 3 *missense* e 1 localizada no intrão 2-3, na região de *splicing*.

Tabela 4.1.8.1 - Variantes detetadas no gene BBS4

dbSNP ID	Variante (NM_033028.4; NP_149017.2)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs114434361	c.180A>G c.180A>G(p.=)	0	1	0.70	0.00	PB	-	
rs12914333	c.906T>C c.906T>C(p.=)	58	1	82.39	100.00	B	Alelo T - Síndrome de Bardet-Biedl	
rs147202164	c.1236A>T p.Glu412Asp	0	1	0.70	0.10	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs75295839	c.137A>G p.Lys46Arg	0	1	0.70	1.09	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs2277598	c.1061T>C p.Ile354Thr	33	22	61.97	65.61	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs8033604	c.77-6G>A	60	1	85.21	100.00	B	Síndrome de Bardet-Biedl	

Segundo o *ClinVar*, com exceção de uma variante sinónima, as variantes reportadas estão associadas à síndrome de Bardet-Biedl.

Na variante sinónima rs12914333, o alelo considerado de referência é o T, sendo também este o alelo associado a Síndrome de Bardet-Biedl, de acordo com o *ClinVar*. A frequência Europeia deste alelo, segundo o *1000 Genomes*, é 0.00 %. Para calcular a frequência do alelo T na amostra em estudo, foram verificados os resultados de sequenciação antes da aplicação do filtro PASS no *Illumina Variant Studio*, bem como os ficheiros BAM, pois alguns alelos C poderiam não ter sido identificados. Assim, chegou-se à conclusão que das 72 amostras sequenciadas, 70 são homozigóticas CC e 1 heterozigótica CT. Para a amostra 58 não foi obtido qualquer resultado.

Segundo o *Human Splicing Finder*, a variante rs8033604, provavelmente não terá impacto no *splicing*.

4.1.9. BBS5

Foram identificadas variantes em 4 indivíduos no gene BB5. Foram detetadas 3 snv's, 2 sinónimas (rs16823066 - NM_152384.2: c.108C>T e rs10188609 - NM_152384.2: c.39C>G) e 1 *missense* (rs137853921 - NM_152384.2: c.551A>G NP_689597.1: p.Asn184Ser), todas classificadas como benignas no *ClinVar* e associadas ao Síndrome de Bardet-Biedl, e todas com frequência europeia, de acordo com o projeto *1000 Genomes*, inferior a 1.00%. A variante *missense* tem previsão de provavelmente danosa no *PolyPhen*.

4.1.10. BBS6/MKKS

No gene BBS6/MKKS foram registadas alterações em 21 indivíduos, tendo sido detetadas 7 snv's, das quais 5 *missense* e 2 sinónimas, registadas na tabela 4.1.10.1, todas associadas ao Síndrome de Bardet-Biedl.

Tabela 4.1.10.1 - Variantes detetadas no gene BBS6/MKKS

dbSNP ID	Variante (NM_170784.2; NP_740754.1)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs17852625	c.534C>T c.534C>T(p.=)	2	16	14.08	8.75	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs16991547	c.117C>T c.117C>T(p.=)	3	2	5.63	8.94	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs141201812	c.697A>C p.Ile233Leu	0	1	0.70	0.20	NR	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs74315394	c.724G>T p.Ala242Ser	0	1	0.70	0.69	B/P	Síndrome de Bardet-Biedl / Mckusick Kaufman	Prov. danosa
rs61734546	c.1462G>A p.Ala488Thr	0	1	0.70	0.00	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs1545	c.1595G>T p.Gly532Val	1	15	11.97	8.75	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs1547	c.1549C>T p.Arg517Cys	2	15	13.38	8.75	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna

A variante *missense* rs74315394 encontra-se registada no *ClinVar* como patogénica para o Síndrome de Mckusick Kaufman.

A frequência das variantes rs17852625, rs1545 e rs1547 na amostra em estudo é superior à frequência Europeia segundo o *1000 Genomes*, no entanto, segundo a mesma fonte, os valores da frequência Global destas variantes são superiores (19.15%, 19.27%, 19.51%, respetivamente).

4.1.11. BBS7

No gene BBS7 foram registadas 3 variantes: 1 snv *missense* (rs766450289, NM_176824.2:c.76G>A, NP_789794.1:p.Ala26Thr) e 1 snv localizada intrão 7-8 (rs374523374, NM_176824.2:c.718+9T>C), e 1 deleção localizada no intrão 5-6 na região de *splicing* (rs758828904, NM_176824.2:c.529-7_529-5delCCT), em 3 amostras, em heterozigotia. Nenhuma destas variantes tem fenótipo associado na base de dados *ClinVar*, nem existem registos de frequência destas variantes no projeto *1000 Genomes*. A variante rs758828904, segundo o *Human Splicing Finder*, provavelmente não terá impacto no *splicing*.

4.1.12. BBS8/TTC8

Foram identificadas 3 snv's, em heterozigotia, em 3 indivíduos: uma variante *missense* (rs150880478, NM_144596.2c.284A>G, NP_653197.2:p.Lys95Arg), uma variante

localizada no intrão 7-8 na região de *splicing* (rs137853922, NM_144596.2:c.625-5C>T), e uma variante *nonsense* (rs948160026, NM_144596.2:c.677G>A, NP_653197.2: p.Trp226Ter), estando as duas primeiras associadas a Síndrome de Bardet-Biedl.

4.1.13. BBS9

No gene BBS9 encontraram-se variantes em 35 indivíduos, registadas na tabela 4.1.13.1. No total foram identificadas 10 variantes, das quais 4 sinónimas, 4 *missense*, 1 localizada no intrão 9-10 (rs61756571) e 1 localizada no intrão 16-17 (rs28622379), ambas na região de *splicing*, todas associadas ao Síndrome de Bardet-Biedl.

Tabela 4.1.13.1 - Variantes detetadas no gene BBS9

dbSNP ID	Variante (NM_198428.2; NP_940820.1)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs78283245	c.390T>C c.390T>C(p.=)	0	1	0.70	0.00	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs115809567	c.2220G>A c.2220G>A(p.=)	0	2	1.41	0.00	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs35195153	c.1029A>G c.1029A>G(p.=)	0	3	2.11	0.00	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs6964382	c.1284C>T c.1284C>T(p.=)	0	2	1.41	0.00	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs138072724	c.1280C>T p.Ala427Val	0	1	0.70	1.19	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
rs34218557	c.1562G>A p.Arg521Gln	0	1	0.70	0.00	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
rs34209904	c.1849A>C p.Ile617Leu	0	2	1.41	0.00	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs11773504	c.1363G>A p.Ala455Thr	5	21	21.83	19.58	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs28622379	c.1694-6T>C	0	1	0.70	0.10	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs61756571	c.1017-6T>C	0	4	2.82	6.46	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	

As diferenças encontradas entre as frequências Europeia (19.58%) e Global (17.13%) da variante *missense* rs11773504, reportada no *ClinVar* com associação à Síndrome de Bardet-Biedl, e a frequência na amostra em estudo (21.83%), parecem indicar que se tratará de uma potencial variante de risco com associação à obesidade.

As variantes rs115809567, rs35195153, rs6964382 e rs34209904 apresentam, à semelhança da variante anterior, frequências na amostra em estudo superiores à frequência Europeia, segundo o projeto *1000 Genomes*, no entanto, apresentam valores inferiores ou sem diferença considerável em comparação com a frequência Global registada na mesma fonte (0.82%, 4.93%, 4.97% e 1,72%, respetivamente).

4.1.14. BBS10

No gene BBS10 foram detetadas 4 snv's, 1 sinónima (rs887761680 - NM_024685.3:c.163C>T) e 3 *missense* (rs142863601 - NM_024685.3:c.424G>A, NP_078961.3: p.Asp142Asn; rs34737974 - NM_024685.3: c.1631A>G, NP_078961.3:p.Asn544Ser; rs35676114 - NM_024685.3: c.1616C>T, NP_078961.3: p.Pro539Leu). Estas alterações foram identificadas em 15 indivíduos.

As 3 variantes *missense*, segundo o *ClinVar*, estão classificadas como benignas e relacionadas com a Síndrome de Bardet-Biedl. A variante sinónima não se encontra reportada no *ClinVar* nem no projeto *1000 Genomes*, sendo a sua frequência global, segundo o *TopMed*, de 0.005%.

4.1.15. BBS11/TRIM32

Foram detetadas duas variantes, uma *missense* rs758882829 (NM_012210.3:c.302G>A, NP_036342.2:p.Arg101Gln) e uma sinónima rs1661300 (NM_012210.3:c.1245G>A), afetando respetivamente, 1 e 11 indivíduos. A variante sinónima encontra-se, segundo o *ClinVar*, associada a Síndrome de Bardet-Biedl com previsão de provavelmente benigna.

4.1.16. BBS12

Cinquenta amostras apresentaram alterações no gene BBS12. No total foram detetadas 15 variantes, 8 sinónimas e 7 *missense*, registadas na tabela 4.1.16.1.

Todas as variantes, sinónimas e *missense*, encontram-se, segundo a base de dados *ClinVar*, associadas à Síndrome de Bardet-Biedl.

Tabela 4.1.16.1 - Variantes detetadas no gene BBS12

dbSNP ID	Variante (NM_152618.2; NP_689831.2)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)		<i>ClinVar</i>	<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs34296401	c.1062G>C c.1062G>C(p.=)	0	3	2.11	2.19	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs17006092	c.1209G>A c.1209G>A(p.=)	0	3	2.11	2.19	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs17006077	c.51A>G c.51A>G(p.=)	0	1	0.70	0.20	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs13102440	c.1872A>G c.1872A>G(p.=)	3	25	21.83	21.27	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs309371	c.1200G>A c.1200G>A(p.=)	0	7	4.93	2.48	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs13135766	c.1380G>C c.1380G>C(p.=)	3	25	21.83	21.77	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs13135445	c.1410C>T c.1410C>T(p.=)	3	22	19.72	23.46	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs2292493	c.1398C>T c.1398C>T(p.=)	4	7	10.56	8.25	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs138036823	c.116T>C p.Ile39Thr	0	2	1.41	0.50	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa

dbSNP ID	Variante (NM_152618.2; NP_689831.2)	Ho	He	Freq. (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs77731085	c.355G>A p.Gly119Ser	0	1	0.70	0.00	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
rs10027479	c.1381A>C p.Asn461His	0	2	1.41	0.00	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs28507107	c.1847G>Ap. Ser616Asn	0	2	1.41	0.10	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs7665271	c.1286G>C p.Ser429Thr	0	1	0.70	0.20	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs13135778	c.1399G>A p.Asp467Asn	0	1	0.70	21.27	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs309370	c.1157G>A p.Arg386Gln	11	31	37.32	31.91	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna

As variantes rs309371, rs2292493, rs10027479 e rs309370 apresentam frequências na amostra em estudo superiores à frequência Europeia, segundo o projeto *1000 Genomes*, no entanto, apresentam valores inferiores relativamente à frequência Global da mesma fonte: 9.26%, 30.05% 2.36% e 50.64%, respetivamente.

4.1.17. BBS13/MKS1

No gene BBS13/MKS1, em 33 indivíduos, foram detetadas duas snv's, uma *missense* (rs142813109 - NM_017777.3:c.213C>G; NP_060247.2:p.Asp71Glu) e uma localizada no intrão 8-9 (rs3826300:NM_017777.3: c.858+9A>G), ambas classificadas como benignas e associadas à Síndrome de Bardet-Biedl.

4.1.18. BBS14/CEP290

No gene BBS14/CEP290, foram detetadas variantes em 37 indivíduos, registadas na tabela 4.1.18.1. Foram identificadas 1 deleção *inframe* e 17 snv's, das quais 3 sinónimas (uma na região de *splicing* - rs45465996), 13 *missense* (2 na região de *splicing*) e 1 localizada no intrão 4-5. Das 18 variantes, 10 estão associadas a Síndrome de Bardet-Biedl.

As variantes *missense* rs200587974 e rs554863859, localizadas na região de *splicing*, segundo o *Human Splicing Finder*, potencialmente afetarão o *splicing*.

As frequências das variantes rs7970228 e rs190383141 na amostra em estudo são superiores à frequência Europeia segundo o *1000 Genomes*, no entanto, os valores das frequências Globais destas variantes são superiores ou a diferença não tem significado: 4.95% e 1.86% respetivamente.

As frequências Global e Europeia, segundo o *1000 Genomes*, da variante rs11104738 são de 9.70% e 4.87 %, respetivamente. A frequência na amostra em estudo é 2.86% (valor corrigido, apenas 70 amostras apresentaram leitura), sendo assim inferior às

frequências consideradas de referência. Assim, o alelo c.2512A parece constituir um potencial alelo de risco com associação à obesidade.

Tabela 4.1.18.1 - Variantes detetadas no gene BBS14/CEP290

dpSNP ID	Variante (NM_025114.3; NP_079390.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen</i>
rs760503950	c.3162_3167del CATTTC p.Ile1055_Ser10 56del	0	1	0.70	-	NR		
rs45465996	c.2055T>C c.2055T>C(p.=)	3	15	14.79	20.08	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs117370446	c.5322C>T c.5322C>T(p.=)	0	1	0.70	0.69	VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs117122459	c.4119A>G c.4119A>G(p.=)	0	2	1.41	3.38	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
rs1222421581	c.376C>A p.Gln126Lys	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs1274778299	c.6299G>A p.Cys2100Tyr	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs1420933299	c.3644C>T p.Ala1215Val	0	1	0.70	-	NR	-	Benigna
rs188164241	c.1079G>A p.Arg360Gln	0	2	1.41	0.50	PB	Síndrome Joubert e Meckel-Gruber	Prov. danosa
rs11104729	c.5506A>G p.Ile1836Val	0	1	0.70	0.10	VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs117852025	c.6401T>C p.Ile2134Thr	0	1	0.70	0.89	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
rs45502896	c.829G>C p.Glu277Gln	0	5	3.52	2.58	PB	Síndrome Joubert e Meckel-Gruber	Prov. danosa
rs79705698	c.1991A>G p.Asp664Gly	0	1	0.70	1.29	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs7970228	c.2717T>G p.Leu906Trp	0	3	2.11	0.10	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
rs7307793	c.3710G>A p.Arg1237His	0	1	0.70	0.00	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
rs11104738	c.2512A>G p.Lys838Glu	0	4	2.82	4.87	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs200587974	c.671C>T p.Thr224Ile	0	1	0.70	-	NR	-	Benigna
rs554863859	c.4813G>T p.Asp1605Tyr	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs190383141	c.251-10A>T	0	4	2.82	0.10	B	Síndrome de Bardet-Biedl	

4.1.19. BBS15/WDPCP

No gene BBS15/WDPCP foram detetadas variantes em 27 amostras (tabela 4.1.19.1). Foram identificadas 4 snv's, 3 *missense* e 1 localizada no intrão 14-15 na região de *splicing*. Todas estão associadas, segundo o *ClinVar*, com a síndrome de Bardet-Biedl.

Tabela 4.1.19.1 - Variantes detetadas no gene BBS15

dbSNP ID	Variante (NM_015910.5; NP_056994.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs61734466	c.1333G>C p.Ala445Pro	0	1	0.70	0.99	VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs61734468	c.2063A>G p.Asn688Ser	0	2	1.41	0.69	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs17617459	c.802G>A p.Gly268Ser	0	1	0.70	5.57	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
rs2421862	c.1916-6C>T	3	22	19.72	20.67	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	

Segundo o *Human Splicing Finder* a variante rs2421862 não terá impacto provável no *splicing*.

4.1.20. BBS17/LZTFL1

Foram detetadas 2 snv's *missense*, em 9 amostras, todas em heterozigotia e não reportadas no *ClinVar*.

A variante rs1129183 (NM_020347.3:c.736G>A, NP_065080.1:p.Asp246Asn), afetando 8 amostras em heterozigotia, tem uma frequência Europeia segundo o *1000 Genomes* de 7.35%. Esta variante é considerada possivelmente danosa pelo *PolyPhen*.

A variante rs9917821 (NM_020347.3:c.376A>C, NP_065080.1:p.Asn126His), afetando 1 amostra em heterozigotia, tem uma frequência Europeia segundo o projeto *1000 Genomes* de 0.00%, sendo considerada benigna no *PolyPhen*.

4.1.21. BDNF

No gene BDNF foram identificadas alterações em 11 indivíduos. No total foram detetadas 2 variantes *missense*, registadas na tabela 4.1.21.1.

Tabela 4.1.21.1 - Variantes detetadas no gene BDNF

dbSNP ID	Variante (NM_170735.5; NP_733931.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs6265	c.196G>A p.Val66Met	0	10	7.04	19.68	RF	Suscetibilidade para comportamentos obsessivo compulsivos, bulimia e anorexia	Possiv. danosa
rs745707481	c.272C>T p.Thr91Met	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa

A variante *missense* rs6265 encontra-se, segundo o *ClinVar*, associada a comportamentos aditivos, a bulimia e anorexia. Segundo a bibliografia consultada, esta variante encontra-se também associada a variações de BMI (74)(75), no entanto, a associação com obesidade é controversa, sendo que existem alguns estudos em que parece ter sido encontrada relação entre esta variante e a patologia, e outros não.(76)(77)

Comparando a frequência desta variante na amostra em estudo (8.73% - valor corrigido considerando que 63 amostras apresentam leitura, e que 11 amostras são heterozigóticas) e a frequência Europeia e Global, segundo o *1000 Genomes*, que é respectivamente de 19.68% e 20.13%, constatamos que existe uma diferença para menos de metade do previsto. Como havia sido referido, a associação entre esta variante e a obesidade é controversa. Estes dados parecem indicar que o alelo c.19G constitui um potencial alelo de risco com associação à obesidade. A comparação dos valores de BMI entre os indivíduos homozigóticos GG (44.6 kg/m²) com os indivíduos heterozigóticos GA (42 kg/m²) corrobora esta identificação.

4.1.22. CCDC28B

Foi detetada uma variante sinónima na região de *splicing* (rs41263993, NM_024296.3:c.330C>T) em 2 indivíduos. Esta variante tem uma frequência Europeia, segundo o *1000 Genomes* de 1.39%, e está identificada como fator de risco/significado incerto para Síndrome de Bardet-Biedl, na base de dados *ClinVar*. Esta variante, segundo o *Human Splicing Finder*, potencialmente causará uma alteração de *splicing*.

4.1.23. CPE

Foram detetadas 4 snv's, em 12 indivíduos, todas em heterozigotia, das quais 3 são sinónimas (rs4690821 - NM_001873.2:c.801C>T, rs201133905 - NM_001873.2:c.945C>T e rs112824368 - NM_001873.2:c.1422A>G) e 1 *missense*, não estando nenhuma referida no *ClinVar*.

Detetada em heterozigotia em 2 indivíduos, a variante *missense*, (rs116683740, NM_001873.2:c.887A>G, NP_001864.1:p.Asn296Ser) é considerada possivelmente danosa pelo *PolyPhen HumDIV*.

4.1.24. FTO

Foram detetadas 2 snv's, em heterozigotia, em 2 indivíduos, uma sinónima (rs148109727, NM_001080432.2:c.1002T>C) e uma *missense* (rs144743617, NM_001080432.2:c.767G>A, NP_001073901.1:p.Ser256Asn), com frequência Europeia segundo o projeto *1000 Genomes* de 0.00% e 0.40%, respectivamente, e que não se encontram associadas a nenhum fenótipo segundo o *ClinVar*.

Apesar deste gene ter sido o primeiro a ser associado à obesidade, identificado em estudos GWAS, e provavelmente um dos mais importantes contribuidores para a obesidade poligénica, nenhuma das variantes identificadas se encontra registada no catálogo GWAS (disponível em <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>), com associação à obesidade. Neste catálogo constam mais de 40 variantes no gene FTO associadas ao BMI ou a suscetibilidade para obesidade. Nenhuma destas variantes foi detetada na

amostra pois são essencialmente variantes de intrão, sendo que neste estudo foram apenas consideradas variantes de exão e localizadas nas regiões exão-intrão.

A variante *missense* é considerada possivelmente danosa pelo *PolyPhen HumDIV*.

4.1.25. G6PC

Foram identificadas 2 snv's, em heterozigotia, em 2 indivíduos, uma *missense* e uma localizada no intrão 2-3.

A variante *missense* (rs149486847, NM_000151.3:c.992C>T, NP_000142.2:p.Ala331Val) é considerada possivelmente danosa pelo *PolyPhen HumDIV*, mas não se encontra reportada no *ClinVar*. A variante não se encontra registada no *1000 Genomes*, sendo a sua frequência global, segundo o *TopMed*, de 0.13%.

A variante localizada no intrão 2-3 (rs368450665, NM_000151.3:c.340+10C>A), detetada na amostra 45, está registada no *ClinVar* com significado incerto e associada à doença de armazenamento do glicogénio (GSD), tipo 1. A frequência Europeia segundo o *1000 Genomes* é 0.00%.

4.1.26. GNAS

No gene GNAS foram detetadas alterações em 52 indivíduos, tendo sido identificadas 3 snv's sinónimas (rs7121 - NM_080425.2:c.2322C>T, rs8386 - NM_080425.2:c.3042C>T e rs8620 - NM_080425.2:c.2484C>T). As variantes apresentam uma frequência Europeia segundo o *1000 Genomes* de 47.41%, 1.19% e 1.19%, respetivamente, e nenhuma se encontra reportada no *ClinVar*.

4.1.27. IGF2

Foram detetadas 3 snv's, em heterozigotia, em 4 indivíduos: 2 sinónimas (rs1803647 - NM_001127598.1:c.402C>G e rs199968864 - NM_001127598.1:c.607G>C), e 1 *missense* (rs150866176, NM_001127598.1:c.607G>C, NP_001121070.1:p.Glu203Gln), nenhuma delas reportadas no *ClinVar*.

A variante *missense*, identificada num indivíduo em heterozigotia, está classificada como provavelmente danosa pelo *PolyPhen HumDIV*, e não tem frequência registada no *1000 Genomes*, sendo que a única referência a esta snv se encontra no *TopMed*, com uma frequência Global de 0.01%. Sendo o individuo afetado filho de pai e mãe obesos, e sendo a transcrição deste gene afetada por um mecanismo epigenético, sendo expresso na maioria dos tecidos exclusivamente o alelo paterno, seria interessante determinar a origem parental do alelo afetado.

4.1.28. IGF2R

No gene IGF2R foram detetadas, em 64 indivíduos, 27 snv's, das quais 10 sinónimas, 13 *missense*, 1 localizada no intrão 15-16, 1 no intrão 44-45 e 2 no intrão 46-47 (as 3 últimas localizadas em regiões de *splicing*), nenhuma das variantes se encontra registada no *ClinVar*. Das 13 variantes *missense*, 4 são possivelmente danosas e 2 provavelmente danosas, segundo o *PolyPhen*. Todas as variantes podem ser consultadas no Anexo II. Na tabela 4.1.28.1 estão registadas as variantes que constituem potenciais variantes de risco, segundo os dados do presente estudo ou bibliografia consultada.

Tabela 4.1.28.1 - Variantes detetadas no gene IGF2R que constituem potenciais variantes de risco

dbSNP ID	Variante (NM_000876.2; NP_000867.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs8191754	c.754C>G p.Leu252Val	17	0	11.97	14.81	NR	-	Possiv. danosa
rs76130099	c.5701G>A p.Val1901Ile	0	3	2.11	0.60	NR	-	Benigna
rs2297367	c.6995+6C>T	2	11	10.56	4.87	NR	-	

A frequência na amostra em estudo das variantes rs76130099 e rs2297367, não reportadas no *ClinVar*, é superior às frequências Globais (0.42% e 7.09%) e Europeias reportadas no *1000 Genomes*. Estas diferenças parecem indicar que se podem tratar de variantes de risco com associação a obesidade. A variante rs2297367 (intrão 46-47) poderá potencialmente causar alterações a nível do *splicing*.

A variante rs8191754 apresenta uma frequência na amostra em estudo de 12.14% (valor corrigido, apenas 70 amostras apresentaram leitura), valor inferior às frequências Global (16.03%) e Europeia (14.81 %), segundo o *1000 Genomes*. Assim, o alelo c.754C constitui um potencial alelo de risco com associação à obesidade.

A variante *missense* rs629849, detetada em 59 indivíduos, tem frequência Europeia de 86,38%, segundo o *1000 Genomes*, No entanto, é o alelo A, considerado de referência, que foi associado ao desenvolvimento de obesidade (numa população coreana) e a distúrbios de crescimento (78)(79) Não foi possível estabelecer a mesma associação com a amostra em estudo. Após verificação dos ficheiros BAM, contabilizaram-se 9 amostras com o alelo A em heterozigotia e 1 em homozigotia o que totaliza uma frequência na amostra do alelo A de 7.97% (69 amostras apresentam leitura), valor abaixo da frequência esperada (13.6%).

4.1.29. IRS1

Foram identificadas variantes no gene IRS1 em 35 indivíduos, num total de 8 snv's, das quais 5 sinónimas e 3 *missense*, registadas na tabela 4.1.29.1.

Uma das variantes *missense* rs770740222, não tem frequência registada no *1000 Genomes*, sendo que no *TopMed*, está registada com uma frequência global de 0.007%.

Tabela 4.1.29.1 - Variantes detetadas no gene IRS1

dbSNP ID	Variante (NM_005544.2; NP_005535.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs34909077	c.2004C>T c.2004C>T(p.=)	0	1	0.70	0.10	NR	-	
rs35909627	c.2679G>C c.2679G>C(p.=)	0	3	2.11	1.59	NR	-	
rs2234931	c.702G>A c.702G>A(p.=)	1	14	11.27	8.55	NR	-	
rs3731597	c.270C>T c.270C>T(p.=)	0	4	2.82	1.39	NR	-	
rs1801123	c.2412A>G c.2412A>G(p.=)	2	12	11.27	8.35	NR	-	
rs770740222	c.1283C>T p.Ser428Leu	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
rs1801276	c.1534G>C p.Ala512Pro	0	2	1.41	2.19	B	Diabetes mellitus tipo 2	Benigna
rs1801278	c.2911G>A p.Gly971Arg	1	11	9.15	8.55	RF	Resistência à insulina e doença arterial coronária	Possiv. danosa

A frequência na amostra em estudo da variante sinónima rs2234931, não reportada no *ClinVar*, é superior às frequências Global (5.29%) e Europeia reportadas no *1000 Genomes*. Esta diferença parece indicar que estamos perante um potencial alelo de risco com associação a obesidade.

As variantes rs3731597 e rs1801123 também apresentam uma frequência na amostra superior à frequência Europeia, segundo o *1000 Genomes*, no entanto face à frequência Global são inferiores (8.87% e 27.99%, respetivamente).

4.1.30. IRS2

No gene IRS2 foram identificadas em 48 indivíduos, 10 snv's distintas, sendo 6 sinónimas e 4 *missense*. As variantes podem ser consultadas no Anexo II.

Com exceção da variante *missense* rs1805097 (NM_003749.2:c.3170G>A, NP_003740.2:p.Gly1057Asp), que constitui um fator de risco para Diabetes mellitus tipo 2, nenhuma das variantes se encontra reportada no *ClinVar*. Esta variante tem previsão de benigna segundo o *PolyPhen*.

4.1.31. IRS4

No gene IRS4, foram detetadas em 26 indivíduos, 11 variantes, das quais 5 snv's sinónimas, 5 snv's *missense* e 1 mnp (*multiple nucleotide variant*), *missense*. As variantes podem ser consultadas no Anexo II.

Nenhuma das variantes identificadas se encontra reportada no *ClinVar*.

A variante *missense*, rs375938401 (NM_003604.2: c.1232_1233delinsAT; NP_003595.1: p.Arg411His), uma mnp, afeta 6 indivíduos, 4 em heterozigotia e 2 em hemizigotia. Não existem registos de frequência para esta variante, no entanto, se considerarmos as duas snv, que “compõem” esta mnp, isoladas (variante sinónima rs80131334 - NM_003604.2:c.1232T>A e variante *missense* rs41307415 - NM_003604.2:c.1233C>T) a frequência europeia segundo o *1000 Genomes* é de 4.53%, o que se aproxima da frequência obtida para a amostra (4.23%).

4.1.32. LEP

No gene LEP, foram detetadas uma snv *missense* e uma snv sinónima, registadas na tabela 4.1.32.1.

Tabela 4.1.32.1 - Variantes detetadas no gene LEP

dbSNP ID	Variante (NM_000230.2; NP_000221.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)		<i>ClinVar</i>	<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs201523305	c.21C>T c.21C>T(p.=)	0	1	0.70	-	VUS	Obesidade monogénica não síndromica e deficiência ou disfunção da leptina	
rs17151919	c.280G>A p.Val94Met	0	2	1.41	0.00	PB /B	Obesidade monogénica não síndromica e deficiência ou disfunção da leptina/Diabetes monogénica	Possiv. danosa

As duas variantes estão associadas a obesidade monogénica e a deficiência ou disfunção da leptina, em 3 indivíduos em heterozigotia. A variante sinónima não tem frequência registada no *1000 Genomes*, sendo a frequência Global segundo o *TopMed* de 0.009%.

4.1.33. LEPR

Em 59 indivíduos foram identificadas variações no gene LEPR, totalizando 6 snv's, das quais 2 sinónimas e 4 *missense*, registadas na tabela 4.1.33.1. Cinco das variantes estão associadas a obesidade monogénica e deficiência no recetor da leptina.

Tabela 4.1.33.1 - Variantes detetadas no gene LEPR

dbSNP ID	Variante (NM_002303.5; NP_002294.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs34499590	c.2096C>T p.Thr699Met	0	1	0.70	0.00	B	Diabetes monogénica	Prov. danosa
rs1805094	c.1968G>C p.Lys656Asn	1	22	16.90	15.11	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	Possiv. danosa
rs1137100	c.326A>G p.Lys109Arg	0	2	1.41	27.04	B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	Benigna
rs1137101	c.668A>G p.Gln223Arg	17	28	43.66	46.92	B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	Benigna
rs1805134	c.1029T>C c.1029T>C(p.=)	2	19	16.20	22.27	B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	
rs1805096	c.3057G>A c.3057G>A(p.=)	7	40	38.03	37.97	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	

4.1.34. LRP2

No gene LRP2 foram identificadas alterações em 69 amostras (tabela 4.1.34.1): 22 snv's *missense*, 28 snv's sinónimas (uma na zona de *splicing*) e 5 snv's localizadas nos intrões 8-9, 10-11, 25-26, 62-63 e 65-66 (todas na zona de *splicing*). O registo de todas as variantes pode ser consultado no Anexo II.

Das 22 variantes *missense*, 8 são provavelmente danosas e 4 possivelmente danosas, segundo o *PolyPhen HumDIV*.

Das variantes encontradas neste gene, não existe informação acerca de associação com o fenótipo procurado no *ClinVar*. Quarenta e seis encontram-se nesta base de dados associadas a Síndrome Donnai Barrow, sendo que uma, identificada na amostra 65 em heterozigotia (rs138269726 - NM_004525.2:c.6160G>A, NP_004516.2 p.Asp2054Asn), tem a classificação de variante patogénica.

A variante sinónima (rs2302694 (NM_004525.2:c.5100C>T) constitui uma potencial causa para alteração do *splicing* neste gene, segundo informação do *Human Splicing Finder*.

Na tabela 4.1.34.1 estão registadas as variantes identificadas na amostra em estudo, que constituem potenciais variantes de risco, de acordo com os dados obtidos neste estudo.

Tabela 4.1.34.1 - Variantes identificadas no gene LRP2 que constituem potenciais variantes de risco para obesidade

dbSNP ID	Variante (NM_004525.2; NP_004516.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs34104660	c.402C>A c.402C>A(p.=)	1	12	9.86	8.15	PB	S.Donnai Barrow	
rs33954745	c.2376T>C c.2376T>C(p.=)	2	10	9.86	8.45	B/PB	S.Donnai Barrow	
rs41268685	c.13250G>A p.Gly4417Asp	0	4	2.82	1.19	PB	S.Donnai Barrow	Prov. danosa
rs183867145	c.894A>G c.894A>G(p.=)	1	0	1.41	0.00	NR	-	
rs147058423	c.3110G>A p.Arg1037Lys	0	2	1.41	0.10	VUS	S.Donnai Barrow	Benigna
rs189273089	c.9592G>A p.Glu3198Lys	0	2	1.41	0.00	NR	-	Possiv. danosa

A frequência na amostra em estudo das variantes rs34104660, rs33954745 e rs41268685, é superior às frequências Globais (4.75%, 7.63% e 0.52%, respetivamente) e Europeias reportadas no *1000 Genomes*. Esta diferença parece indicar que se tratam de potenciais alelos de risco com associação a obesidade.

As variantes rs183867145, rs147058423 e rs189273089, foram consideradas como potenciais variantes de risco com associação à obesidade, apesar de não cumprirem integralmente os critérios definidos neste estudo. Efetivamente, no projeto *1000 Genomes*, a variante rs183867145 apenas foi identificada em 1 indivíduo americano em heterozigotia, a variante rs147058423 num indivíduo europeu em heterozigotia e a variante rs189273089 em 2 indivíduos em heterozigotia, 1 americano e 1 africano, sendo que as 3 foram detetadas cada uma em 2 indivíduos da amostra em estudo.

4.1.35. MAGEL2

Estão representadas na tabela 4.1.35.1 as 3 variantes *missense* detetadas, afetando um total de 4 indivíduos em heterozigotia, e de significado desconhecido no *PolyPhen*.

Tabela 4.1.35.1 - Variantes detetadas no gene MAGEL2

dbSNP ID	Variante (NM_019066.4; NP_061939.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs372805925	c.2971G>A p.Val991Ile	0	1	0.70	0.00	NR	-	Desconhecido
rs138628273	c.3017C>G p.Thr1006Ser	0	1	0.70	0.20	PB	Síndromes de Prader-Willi e de Schaaf-yang	Desconhecido
rs2233070	c.3151C>A p.Leu1051Ile	0	2	1.41	3.38	B	-	Desconhecido

A obesidade é uma característica fenotípica clássica da Síndrome de Prader-Willi, à qual se associa a snv rs138628273. Apesar de partilharem bastantes características

fenotípicas com a Síndrome de Prader-Willi, os doentes com Síndrome de Schaaf-yang não costumam desenvolver hiperfagia nem obesidade mórbida.(42)

4.1.36. MC3R

Foi detetada uma snv *missense* em 11 indivíduos (rs3827103, NM_019888.3:c.130G>A; NP_063941.3:p.Val44Ile). Esta variante com previsão de benigna no *PolyPhen*, frequência Europeia de 7.7%, e não reportada no *ClinVar*, foi já considerada fator de risco para obesidade infantil e resistência à insulina.(39)

4.1.37. MC4R

No gene MC4R, foi identificada uma variante *missense*, em 4 indivíduos em heterozigotia, registada na tabela 4.1.37.1.

Tabela 4.1.37.1 - Variantes detetadas no gene MC4R

dbSNP ID	Variante (NM_005912.2; NP_005903.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs2229616	c.307G>A p.Val103Ile	0	4	2.82	0.69	PB	Obesidade e diabetes monogénica	Benigna

A diferença encontrada entre a frequência Europeia registada no *1000 Genomes* e a frequência na amostra em estudo, vem corroborar a associação referida no *ClinVar*.

4.1.38 MCHR1

Foram detetadas, em 42 indivíduos, 4 snv's no gene MCHR1, das quais 2 sinónimas e 2 *missense*, registadas na tabela 4.1.38.1, sendo que nenhuma se encontra reportada no *ClinVar*.

Tabela 4.1.38.1 - Variantes detetadas no gene MCHR1

dbSNP ID	Variante (NM_005297.3; NP_005288.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs138921026	c.273T>C c.273T>C(p.=)	0	1	0.70	0.10	NR	-	
rs133073	c.246C>T c.246C>T(p.=)	5	15	17.61	60.54	NR	-	
rs146628737	c.139C>G p.Leu47Val	0	1	0.70	-	NR	-	Possiv. danosa
rs133072	c.94A>G p.Asn32Asp	15	26	39.44	63.52	NR	-	Benigna

A variante *missense* rs146628737, não registada no *1000 Genomes*, tem uma frequência global segundo o *TopMed* de 0.076 %.

Na variante *missense* rs133072, com previsão *PolyPhen HumDIV* de possivelmente danosa, o alelo c.94G tem uma frequência europeia segundo o *1000 Genomes* de 63,52%. A presença do alelo de referência, c.94A foi num estudo realizado por Kring et al. associado a menor obesidade abdominal.(46) Os dados do presente estudo não corroboram esta associação: após verificação dos ficheiros BAM, constatou-se que a frequência deste alelo (c.94A) na amostra em estudo seria de 39,68%, mais elevada que a frequência Europeia registada no *1000 Genomes* (36.65%).

4.1.39. MKRN3

Foi detetada uma variante sinónima (rs2239669, NM_005664.4:c.663C>T), em 33 amostras, das quais 30 heterozigóticas (frequência na amostra 25.35%), com uma frequência europeia pelo *1000 Genomes* de 31.61% e não reportada no *ClinVar*.

4.1.40. NDN

Foi detetada uma snv sinónima (rs2192206, NM_002487.2:c.858C>T) em 20 indivíduos, dos quais um homozigótico, sendo que a frequência europeia no *1000 Genomes* é de 21.07%. Esta variante não tem fenótipo associado no *ClinVar*.

4.1.41. NEGR1

Foram detetadas, em 66 indivíduos, 6 snv's no gene NEGR1, sendo 4 sinónimas e 2 *missense*, nenhuma associada a patologia no *ClinVar*. Estas variantes encontram-se registadas no Anexo II.

Uma das variantes *missense* (rs41289154 - NM_173808.2:c.1040A>C, NP_776169.2: p.Tyr347Ser) tem previsão *PolyPhen* de provavelmente danosa.

4.1.42. NPY

No gene NPY foram detetadas alterações em 51 indivíduos, tendo sido identificadas 3 snv's, duas sinónimas e uma *missense* (tabela 4.1.42.1).

Tabela 4.1.42.1 - Variantes detetadas no gene NPY

dbSNP ID	Variante (NM_000905.3; NP_000896.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs5574	c.204C>T c.204C>T(p.=)	8	34	35.21	47.02	NR	-	
rs5573	c.150G>A c.150G>A(p.=)	12	37	42.96	50.70	NR	-	
rs16139	c.20T>C p.Leu7Pro	0	3	2.11	3.97	B	Polimorfismo do neuropeptido Y	Benigna

A variante *missense* rs16139 encontra-se registada como benigna no *ClinVar* e no *PolyPhen* e está associada com o aumento de suscetibilidade para a obesidade.(80)

Apesar da frequência na amostra ser inferior à frequência na Europa, segundo o *1000 Genomes*, ela é superior à frequência global (1.7%).

Relativamente à variante sinónima rs5574, a presença do alelo c.204T parece estar associado com a redução do risco de desenvolver obesidade.(80) As diferenças obtidas entre a frequência amostral e a frequência Europeia devem-se ao baixo *coverage* obtido nesta região.

4.1.43. NPY1R

Foi detetada uma variante *missense*, em heterozigotia, em 4 indivíduos, que se encontra registada na tabela 4.1.43.1. A frequência na amostra em estudo desta variante é superior às frequências Global (0.30%) e Europeia reportadas no *1000 Genomes*. Esta diferença parece indiciar que estamos na presença de um potencial alelo de risco com associação a obesidade.

Tabela 4.1.43.1 - Variante detetada no gene NPY1R

dbSNP ID	Variante (NM_000909.5 ;NP_000900.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs5578	c.1121A>C p.Lys374Thr	0	4	2.82	0.69	NR	-	Benigna

4.1.44. NPY2R

Foram detetadas alterações no gene NPY2R em 53 indivíduos, constituindo 3 variantes sinónimas, rs1047214 (NM_000910.2:c.585C>T), rs2342674 (NM_000910.2:c.159C>T) e rs2880415 (NM_000910.2:c.936C>T), com uma frequência europeia pelo *1000 Genomes* de 54.47%, 0,00% e 54.47%, respetivamente. Nenhuma das variantes se encontra reportada no *ClinVar*.

4.1.45. NTRK2

No gene NTRK2 foram detetadas 4 snv's sinónimas e uma snv localizada no intrão 17-18 na região de *splicing*, identificadas em 14 indivíduos, e registadas na tabela 4.1.45.1.

Tabela 4.1.45.1 - Variantes detetadas no gene NPY1R

dbSNP ID	Variante (NM_006180.3; NP_006171.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs2289658	c.1765-7T>C	0	5	3.52	4.37	NR	-	
rs138503321	c.2478G>A c.2478G>A(p.=)	0	1	0.70	0.30	NR	-	
rs56142442	c.2430C>T c.2430C>T(p.=)	0	1	0.70	0.00	B	-	
rs144491317	c.2361C>A c.2361C>A(p.=)	0	1	0.70	0.00	NR	-	
rs2289657	c.1848C>A c.1848C>A(p.=)	0	12	8.45	4.37	NR	-	

As frequências Global (5.81%) e Europeia segundo o *1000 Genomes* da variante rs2289657 é inferior à frequência registada na amostra em estudo, podendo esta diferença indiciar que se trata de um potencial alelo de risco com associação a obesidade. Segundo o *Human Splicing Finder*, a variante rs2289658, não terá impacto provável no *splicing*.

4.1.46. PAX6

Foram detetadas 2 variantes snv em heterozigotia, ambas sinónimas (rs141873759 - NM_001258462.1:c.130C>A e rs149053004 - NM_001258462.1:c.873G>A), em 2 indivíduos. A frequência Europeia segundo o projeto *1000 Genomes* é 0.00% e 0.20 %, respetivamente, e estão reportadas no *ClinVar* como benigna e provavelmente benigna, mas não associadas ao fenótipo procurado.

4.1.47. PCK1

Foram detetadas alterações no gene PCK1 em 67 amostras (tabela 4.1.47.1). Num total de 14 snv's identificadas, 9 são sinónimas e 5 *missense*.

Tabela 4.1.47.1 - Variantes detetadas no gene PCK1

dbSNP ID	Variante (NM_002591.3; NP_002582.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs142010387	c.1209C>T c.1209C>T(p.=)	0	1	0.70	0.00	NR	-	
rs28359544	c.705C>T c.705C>T(p.=)	0	3	2.11	5.07	PB	Deficiência em PCK1	
rs28359547	c.873C>T c.873C>T(p.=)	0	1	0.70	0.10	PB	Deficiência em PCK1	
rs6070157	c.282C>T c.282C>T(p.=)	1	21	16.20	17.40	PB	Deficiência em PCK1	
rs1062600	c.453G>A c.453G>A(p.=)	11	25	33.10	47.32	B	Deficiência em PCK1	
rs1042523	c.462A>G c.462A>G(p.=)	12	28	36.62	52.29	B	Deficiência em PCK1	
rs1062601	c.489A>G c.489A>G(p.=)	12	29	37.32	52.29	B	Deficiência em PCK1	
rs1042521	c.69A>G c.69A>G(p.=)	13	29	38.73	52.78	B	Deficiência em PCK1	
rs2070756	c.1140T>C c.1140T>C(p.=)	26	27	55.63	74.25	B	Deficiência em PCK1	
rs34103538	c.1735A>C p.Ser579Arg	0	1	0.70	0.00	PB	Deficiência em PCK1	Benigna
rs1804160	c.1102G>A p.Val368Ile	0	1	0.70	4.97	PB	Deficiência em PCK1	Benigna
rs11552145	c.826G>A p.Glu276Lys	1	19	14.79	17.20	PB	Deficiência em PCK1	Benigna
rs707555	c.550G>C p.Val184Leu	47	17	78.17	86.48	B	Deficiência em PCK1	Benigna
rs8192708	c.799A>G p.Ile267Val	1	14	11.27	12.03	PB	Deficiência em PCK1	Prov. danosa

A variante *missense* rs8192708, localizada na região de *splicing*, segundo o *Human Splicing Finder*, potencialmente afetará o *splicing*.

Com exceção da variante sinónima rs142010387, todas as variantes estão associadas segundo a base de dados *ClinVar* a deficiência em enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PCK1). Pacientes com estas patologias apresentam baixa tolerância ao jejum, sendo esta uma das causas que pode conduzir a obesidade.

4.1.48. PCSK1

Em 62 indivíduos foram identificadas alterações no gene PCSK1, registadas na tabela 4.1.48.1. Foram detetadas 5 snv's, 2 sinónimas e 3 *missense*, todas elas com associação ao fenótipo em estudo segundo o *ClinVar*.

Tabela 4.1.48.1 - Variantes detetadas no gene PCSK1

dbSNP ID	Variante (NM_000439.4; NP_000430.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)		<i>ClinVar</i>	<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs6231	c.612C>T c.612C>T(p.=)	0	3	2.11	0.60	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	
rs6233	c.1650T>C c.1650T>C(p.=)	8	33	34.51	36.78	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	
rs6232	c.661A>G p.Asn221Asp	0	5	3.52	3.28	RF	BMI	Benigna
rs6235	c.2069G>C p.Ser690Thr	7	19	23.24	25.94	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	Benigna
rs6234	c.1993C>G p.Gln665Glu	6	6	12.68	26.04	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	Benigna

4.1.49. POMC

Foram detetadas alterações no gene POMC em 7 indivíduos (tabela 4.1.49.1)

Tabela 4.1.49.1 - Variantes detetadas no gene POMC

dbSNP ID	Variante (NM_000939.2; NP_000930.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)		<i>ClinVar</i>	<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs8192605	c.18C>T c.18C>T(p.=)	0	1	0.70	1.69	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e defic. POMC	
rs80326661	c.641A>G p.Glu214Gly	0	3	2.11	0.69	VUS	-	Possiv. danosa
rs28932472	c.706C>G p.Arg236Gly	0	2	1.41	0.30	RF	Obesidade infantil	Prov. danosa
rs10654394	c.280_288AG CAGCGGC p.94_96SSG	0	1	0.70	4.27	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e defic. POMC	

Num total de 4 variantes, registaram-se 1 snv sinónima, 2 snv's *missense* e 1 inserção *inframe*. Com exceção de uma das variantes *missense*, as restantes, segundo informação *ClinVar*, estão associadas a obesidade.

4.1.50. PPARG

Foram identificadas alterações no gene PPARG em 14 indivíduos, tendo sido detetadas 3 snv's, 1 sinónima e 2 *missense*, das quais 2 associadas a obesidade (tabela 4.1.50.1).

Tabela 4.1.50.1 - Variantes detetadas no gene PPARG

dbSNP ID	Variante (NM_015869.4; NP_056953.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs186728157	c.1364A>G p.Glu455Gly	0	1	0.70	0.00	NR	-	Benigna
rs1801282	c.34C>G p.Pro12Ala	0	8	5.63	12.03	PB	Obesidade e Diabetes Mellitus não insulino- dependente	Benigna
rs3856806	c.1431C>T c.1431C>T(p.=)	1	11	9.15	12.13	PB	Obesidade e Diabetes Mellitus não insulino- dependente	

4.1.51. PRKAR1A

No gene PRKAR1A foi detetada uma snv (rs3730349 - NM_212471.2:c.87G>A), sinónima, em heterozigotia, em dois indivíduos, com frequência Europeia, segundo o projeto *1000 Genomes*, de 3.08 %.

Foi ainda detetada uma inserção (rs3841514 - NM_212471.2:c.349-5dupT), afetando 20 indivíduos, 2 dos quais em homozigotia. A frequência europeia é de 24.65%.

As duas variantes estão classificadas, respetivamente como benigna e provavelmente benigna no *ClinVar*, estando associadas a acrodisostose.

4.1.52. SH2B1

No gene SH2B1 foram registadas alterações em 17 amostras, tendo sido identificadas 4 variantes, 1 snv sinónima, 2 snv's *missense* e 1 snv localizada no intrão 6-7, na região de *splicing*, não estando nenhuma descrita no *ClinVar* (tabela 4.1.52.1).

Tabela 4.1.52.1 - Variantes detetadas no gene SH2B1

dbSNP ID	Variante (NM_001145795.1; NP_001139267.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs751149899	c.234C>T c.234C>T(p.=)	0	1	0.70	-	NR	-	
rs190981290	c.1988C>T p.Ala663Val	0	1	0.70	0.89	NR	-	Benigna
rs7498665	c.1450A>G p.Thr484Ala	4	11	13.38	32.90	NR	-	Benigna
rs117918991	c.1513+5C>T	0	3	2.11	1.59	NR	-	

A variante rs7498665 foi o 1º polimorfismo reportado no gene SH2B1, em 2007, estando associado à obesidade, a hiperleptinemia, aumento de peso, aumento de massa gorda e aumento da circunferência abdominal.(81) A diferença entre a frequência na amostra em estudo e a frequência reportada no *1000 Genomes*, deve-se à baixa qualidade das leituras.

Não existem dados no *1000 Genomes* da variante sinónima rs751149899, sendo que segundo o *TopMed* a prevalência global é de 0.004%.

4.1.53. SIM1

No gene SIM1 foram identificadas alterações em 18 indivíduos, registadas na tabela 4.1.53.1. Foram registadas 4 snv's, 1 sinónima e 3 *missense*.

A presença simultânea das variantes *missense* rs3734354 e rs3734355, em homozigotia, está relacionada com o aumento de BMI em homens adultos caucasianos.(82) Neste estudo estas variantes aparecem simultaneamente em 11 indivíduos, mas em heterozigotia.

Tabela 4.1.53.1 - Variantes detetadas no gene SIM1

dbSNP ID	Variante (NM_005068.2; NP_005059.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs146866401	c.1994G>A p.Arg665His	0	1	0.70	0.00	PB	Síndrome hipogenesia oromandibular e dos membros	Prov. danosa
rs3734354	c.1054C>A p.Pro352Thr	0	13	9.15	14.71	B	Síndrome Schaaf-yang	Benigna
rs3734355	c.1112C>T p.Ala371Val	0	13	9.15	14.71	B	Síndrome Schaaf-yang	Benigna
rs41318041	c.1959C>T c.1959C>T(p.=)	0	3	2.11	2.09	NR	-	

4.1.54. SLC6A14

Foi identificada uma snv sinónima, em heterozigotia, num indivíduo do sexo feminino (rs12720074, NM_007231.3:c.84T>A). As prevalências Global e Europeia, segundo o *1000 Genomes*, são de 5.40% e 9.66 %, respetivamente. A frequência na amostra é inferior a estes valores o que poderá indiciar que o alelo c.84T constitui um potencial alelo de risco com associação à obesidade.

4.1.55. SNRPN

Foram detetadas duas variantes, afetando cada uma um indivíduo, em heterozigotia. Uma snv sinónima (rs36862146, NM_022807.2:c.462T>A), não reportada no *ClinVar* e uma snv localizada no intrão 7-8 (rs112560608, NM_022807.2:c.3+10A>G), com significado incerto para Autismo.

4.1.56. SORCS1

Foram detetadas 12 variantes neste gene, em 34 indivíduos, sendo 6 snv's sinónimas, 3 snv's *missense*, 1 snv localizada no intrão 17-18 e 1 no intrão 25-26, nenhuma reportada no *ClinVar*. Todas as variantes podem ser consultadas no Anexo II.

Das 3 variantes *missense*, 2 são variantes novas, que não se encontram descritas nas bases de dados e bibliografia consultada (tabela 4.1.56.1).

Tabela 4.1.56.1 – Novas variantes detetadas no gene SORCS1

dbSNP ID	Variante (NM_001013031.2; NP_001013049.1)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
-	c.2491A>C p.Thr831Pro	0	1	0.70	-	NR	-	Prov. danosa
-	c.1072A>G p.Arg358Gly	0	1	0.70	-	NR	-	Possiv. danosa

4.1.57. SPG11

No gene SPG11 foram identificadas alterações em 49 indivíduos (consultar Anexo II). Num total de 18 snv's, 6 são sinónimas, 10 *missense*, 1 *nonsense* e 1 encontra-se localizada no intrão 10-11. Dezasseis destas variantes encontram-se associadas a Paraplegia Espástica 11.

A variante de intrão rs374214706 (NM_025137.3:c.2067+8C>T), segundo o *Human Splicing Finder*, não tem provável impacto ao nível do *splicing*.

Na amostra 75 foi identificada uma variante *nonsense*, em heterozigotia (rs199588440 (NM_025137.3:c.1951C>T, NP_079413.3:p.Arg651Ter), que está reportada no *ClinVar* como patogénica para paraplegia espástica.

As variantes *missense* rs79708848 e sinónima rs80338869, registadas na tabela 4.1.57.1, apresentam frequências Global (0.52 e 1.18%) e Europeia, segundo o *1000 Genomes*, inferiores às registadas na amostra em estudo. Esta diferença poderá indiciar que se tratarão de potenciais variantes de risco com associação à obesidade.

Tabela 4.1.57.1 - Variantes detetadas no gene SPG1 que constituem potenciais variantes de risco com associação a obesidade

dbSNP ID	Variante	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs79708848	c.1698T>G p.Asp566Glu	0	4	2.82	1.39	B	Paraplegia espástica 11	Possiv. danosa
rs80338869	c.7023C>T c.7023C>T(p=)	2	6	7.04	3.18	B	Paraplegia espástica 11	

4.1.58. TBX3

Foram identificadas alterações no gene TBX3 em 9 indivíduos, num total de 5 variantes snv, em heterozigotia, 4 das quais sinónimas (rs146589414 - NM_016569.3:c.1233G>C; rs34627348 - NM_016569.3:c.837C>T; rs142592809 - NM_016569.3:c.61C>T; rs35069811- NM_016569.3:c.619C>T), associadas a Síndrome de Ulnar-mamário, e 1 *missense* (rs1423724888 - NM_016569.3:c.1302C>G, NP_057653.3:p.Asp434Glu), não reportada no *ClinVar*. A variante *missense*, afeta uma amostra em heterozigotia, está

classificada como possivelmente danosa no *PolyPhen HumDIV*, tem uma frequência global no *TopMed* de 0,002% e não se encontra reportada no *ClinVar*.

4.1.59. THRB

No gene THRB foram registadas alterações em 28 indivíduos, tendo sido registadas 4 snv's, 1 *missense*, 2 sinónimas e 1 localizada no intrão 9-10 (tabela 4.1.59.1).

Com exceção da variante *missense*, que não se encontra reportada, as restantes estão classificadas como benignas no *ClinVar* e associadas a resistência à hormona tiroideia.

Tabela 4.1.59.1 - Variantes detetadas no gene THRB

dbSNP ID	Variante (NM_000461.4; NP_000452.2)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
rs13081063	c.1251T>C c.1251T>C(p.=)	0	2	1.41	3.97	B	Resistência à hormona tiroideia	
rs3752874	c.735C>T c.735C>T(p.=)	1	22	16.90	15.31	B	Resistência à hormona tiroideia	
rs9865746	c.647A>G p.Asp216Gly	0	1	0.70	0.00	NR	-	Benigna
rs13063628	c.1144+9G>A	0	2	1.41	14.02	B	Resistência à hormona tiroideia	

4.1.60. TMEM67

Foram identificadas em 60 indivíduos alterações no gene TMEM67 (consultar Anexo II), tendo sido registadas 11 snv's: 4 sinónimas (1 na região de *splicing*), 5 *missense*, 1 localizada no intrão 10-11 e 1 localizada no intrão 24-25, ambas na região de *splicing*.

A variante sinónima rs111991507 (NM_153704.5: c.717A>G) e a variante localizada no intrão 24-25 rs772449181 (NM_153704.5:c.2556+4T>G) constituem potenciais causas para alteração de *splicing*, segundo informação do *Human Splicing Finder*.

Foram detetadas uma nova variante *missense*, na amostra 10 em heterozigotia, e uma nova variante sinónima, na amostra 5 em heterozigotia (Tabela 4.1.60.1)

Tabela 4.1.60.1 – Novas variantes detetadas no gene TMEM67

dbSNP ID	Variante (NM_153704.5 ;NP_714915.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
-	c.2583T>C c.2583T>C(p.=)	0	1	0.70	-	NR	-	
-	c.158A>G p.Gln53Arg	0	1	0.70	-	NR	-	Benigna

A variante sinónima rs117195541 (tabela 4.1.60.2), apresenta uma frequência na amostra superior às frequências Global (0.84%) e Europeia, segundo o *1000 Genomes*. Esta diferença poderá indiciar que a variante se tratará de um potencial fator de risco associado à obesidade.

Tabela 4.1.60.2 - Variante detetada no gene TMEM67, considerada potencial variante de risco com associação a obesidade

dbSNP ID	Variante (NM_153704.5 ;NP_714915.3)	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs117195541	c.2397T>C c.2397T>C(p.=)	0	4	2.82	1.39	B/ VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	

4.1.61. UCP1

Em 10 indivíduos com alterações no gene UCP1, foram detetadas 3 snv's, 1 sinónima (rs1268761553 - NM_021833.4: c.27A>G) e 2 *missense* (rs2270565 - NM_021833.4: c.685A>T NP_068605.1:p.Met229Leu; rs45539933 - NM_021833.4:c.190G>A NP_068605.1:p.Ala64Thr) com previsão de benignas de acordo com o *PolyPhen*.

Nenhuma das variantes se encontra reportada no ClinVar, mas a variante *missense* rs45539933 foi já associada a tensão arterial e obesidade.(66)

4.1.62. UCP2

Foi detetada uma variante *missense*, em 29 indivíduos, 7 em homozigotia.

Esta variante rs660339 (NM_003355.2:c.164C>T, NP_003346.2:p.Ala55Val), tem uma prevalência Europeia de 40.46%, segundo o *1000 Genomes*, e é previsivelmente benigna segundo o *PolyPhen*. Este polimorfismo está associado a obesidade.(65)

4.1.63. UCP3

Foram detetadas alterações em 54 indivíduos: 2 snv's sinónimas, 3 snv's *missense*, 1 snv no intrão 2-3 e 1 snv no intrão 6-7 (ambas na região de *splicing*), registadas no Anexo II. Com exceção da variante *missense* rs2229707 (tabela 4.1.63.1) que se encontra classificada como patogénica para Obesidade severa e Diabetes tipo 2, as restantes variantes identificadas não se encontram registadas no *ClinVar*.

Tabela 4.1.63.1 - Variante patogénica identificada no gene UCP3

dbSNP ID	Variante	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
rs2229707	c.304G>A p.Val102Ile	0	1	0.70	0.50	P	Obesidade severa e Diabetes tipo 2	Benigna

A variante rs45476292 (NM_003356.3: c.824+1G>A), localizada no intrão 6-7 muito provavelmente afetará o *splicing*, segundo o *Human Splicing Finder*.

A variante *missense* rs143786748 (NM_003356.3:c.211A>C, NP_003347.1:p.Thr71Pro), apesar de uma previsão *PolyPhen HumDIV* de benigna, o *PolyPhen HumVAR* identifica-a como possivelmente danosa. A sua frequência Global segundo o *TopMed* é de 0.034%.

4.2. Análise Global

4.2.1. Consequência das variantes

Das 429 variantes diferentes identificadas (Tabela 4.2.1.1), as mais frequentes são as variantes *missense*, totalizando 48.25%, seguindo-se as variantes sinónimas com 41.49%. Segundo o *1000 Genomes*, 52.09% destas variantes têm uma prevalência europeia inferior a 1%.

Tabela 4.2.1.1 – Nº de variantes identificadas por consequência. Identificação do nº de variantes com prevalência europeia no *1000 Genomes* <1%.

Classificação/Consequência da Variante	Nº de Variantes detetadas	Nº de Variantes detetadas com prevalência europeia no <i>1000 Genomes</i> < 1%
Snv's <i>missense</i>	207	122
Snv's sinónimas	178	75
Snv's localizadas em intrão	38	23
Snv's localizadas na região 3'UTR	3	0
Snv's <i>nonsense</i>	2	2
Deleção com alteração <i>frameshift</i>	1	1
Deleção <i>inframe</i>	1	1
Inserção <i>inframe</i>	1	0

Das 207 snv's *missense* identificadas, 125 têm previsão de benigna, 35 de possivelmente danosas e 44 de provavelmente danosas, segundo o *PolyPhen HumDIV*. Três variantes têm impacto desconhecido.

Em números absolutos, foram detetadas 1701 variantes *missense*, sendo 1435 benignas, 117 possivelmente danosas e 145 provavelmente danosas.

Se considerarmos a definição generalizada de polimorfismo e mutação, em que mutação é definida como uma alteração permanente numa sequência de nucleótidos, enquanto polimorfismo é uma variante cuja frequência é superior a 1.00% (83), poderíamos inferir que das 429 variantes diferentes identificadas, 205 são polimorfismos e 224 mutações. De referir que esta classificação não nos informa da potencial patogenicidade da variante, nem se são variantes recessivas ou dominantes.(83)

É importante assim verificar qual o fenótipo associado a estas variantes, se se enquadra no fenótipo estudado, e qual o potencial de patogenicidade. Na tabela 4.2.1.2 estão identificadas as diferentes associações clínicas registadas que podem ser relacionadas com obesidade (baseado na informação *ClinVar* e na bibliografia consultada), estando registados o número de variantes identificadas e o número de amostras onde foram detetadas estas variantes.

Tabela 4.2.1.2 – Em função da associação clínica apresentam-se o nº de variantes diferentes identificadas (baseado na informação *ClinVar* e na bibliografia consultada), o nº absoluto de variantes nas amostras em estudo e o nº de amostras afetadas.

		Nº de variantes diferentes	Nº total de Variantes	Nº de amostras
Associação Clínica	Suscetibilidade Obesidade	3	44	35
	Obesidade	5	40	34
	Obesidade Monogénica	13	228	66
	Obesidade Síndrômica	94	671	71
	Obesidade infantil	2	13	13
	Diabetes Mellitus tipo 2	5	45	32
	Diabetes Monogénica	12	26	20
	Resistência à Insulina	2	23	20
	Influência no BMI	3	35	23
	Deficiência ou disfunção da Leptina	2	3	3
	Deficiência Recetor Leptina	5	138	59
	Suscetibilidade Síndrome Metabólico	2	77	50
	Resistência à hormona da Tiroide	3	27	27

Foram identificadas 129 variantes potencialmente associadas ao fenótipo de obesidade, de acordo com o *ClinVar* e a bibliografia consultada, tendo algumas mais do que uma associação clínica.

Destas variantes, 7 estão classificadas como fator de risco, 1 classificada como provavelmente patogénica e 3 patogénicas, segundo o *ClinVar* (Tabela 4.2.1.3).

Tabela 4.2.1.3 – Variantes provavelmente patogénicas, patogénicas ou que constituem um fator de risco para o fenótipo em estudo, segundo o *ClinVar*

Gene	dbSNP ID	Ho	He	Alelo	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
ADRB2	rs1042713	23	23	c.46G	Fator Risco	Síndrome metabólico	benigna
ADRB2	rs1042714	31	20	c.79G	Fator Risco	Síndrome metabólico e obesidade	benigna
ADRB3	rs4994	0	10	c.190C	Fator Risco	Obesidade	benigna
IRS1	rs1801278	1	11	c.2911A	Fator Risco	Resistência à insulina	Possiv. danosa
IRS2	rs1805097	2	20	c.3170A	Fator Risco	Diabetes Mellitus	-
PCSK1	rs6232	0	5	c.661G	Fator Risco	Obesidade	Benigna
POMC	rs28932472	0	2	c.706G	Fator Risco	Obesidade infantil	Prov. danosa
BBS2	rs773417074	0	1	c.627_628delTT	Prov. patogénica	Síndrome de Bardet-Biedl	-
MKKS	rs74315394	0	1	c.724T	Patogénica	Síndrome de Mckusick Kaufman	Prov. danosa
SPG11	rs199588440	0	1	c.1951T	Patogénica	Paraplegia espástica 11	
UCP3	rs2229707	0	1	c.304A	Patogénica	Obesidade severa e Diabetes tipo II	Benigna

4.2.2. Incidência de Variantes nos genes em estudo

Dos 65 genes em estudo, e considerando as 64 amostras com *coverage* superior a 80.00%, em 3 genes foram encontradas variantes em 100% das amostras: gene ALMS1, gene LRP2 e NEGR1 (Gráfico 4.2.2.1). Seguem-se os genes BBS4 e PCK1, com variantes em 98,44% das amostras.

Nos genes PTEN e PHF6 não foram detetadas variantes. A verificação do valor médio de cobertura destas sequências, leva-nos a descartar a suspeita de ineficácia de ligação das sondas específicas de enriquecimento.

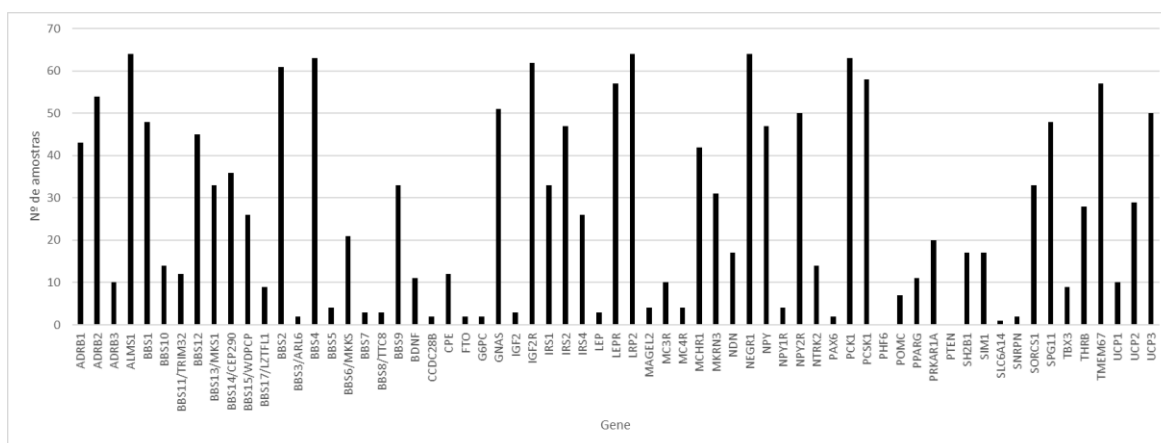


Gráfico 4.2.2.1 – N° de amostras onde foram detetadas variantes, por gene.

Da totalidade de variantes identificadas, 16.80% pertencem ao gene LRP2 e 11.66% ao gene ALMS1 (Gráfico 4.2.2.2).

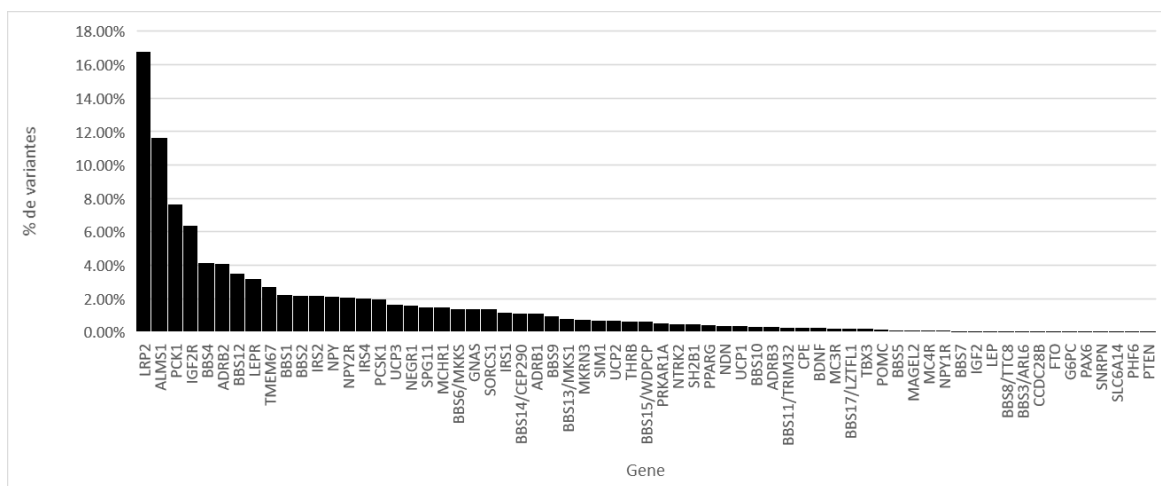


Gráfico 4.2.2.2 – Total de variantes detetadas, por gene, em %.

Nas 64 amostras foi detetada uma média de 26.69 genes onde foram detetadas variantes, e uma média de 66.2 variantes por amostra.

4.2.3. Identificação de potenciais alelos de risco

Comparando a frequência das variantes identificadas na amostra em estudo com as frequências europeias registadas no projeto *1000 Genomes*, foram detetadas diferenças que nos permitiram identificar potenciais alelos de risco associados à obesidade, que se encontram registados na tabela 4.2.3.1.

Tabela 4.2.3.1 – Potenciais alelos de risco com associação a obesidade

Gene	dbSNP ID	Variante		Freq(%)	Freq Eur (%)	Freq GI (%)
ADRB2	rs1800888	c.491C>T	p.Thr164Ile	3.52	1.79	0.40
ALMS1	rs41291187	c.1868A>G	p.His623Arg	3.52	2.09	0.70
BBS9	rs11773504	c.1363G>A	p.Ala455Thr	21.83	19.58	17.13
IGF2R	rs76130099	c.5701G>A	p.Val1901Ile	2.11	0.60	0.42
IGF2R	rs2297367	c.6995+6C>T		10.56	4.87	7.09
IRS1	rs2234931	c.702G>A	c.702G>A(p.=)	11.27	8.55	5.29
LRP2	rs147058423	c.3110G>A	p.Arg1037Lys	1.41	0.10	0.02
LRP2	rs189273089	c.9592G>A	p.Glu3198Lys	1.41	0.00	0.04
LRP2	rs41268685	c.13250G>A	p.Gly4417Asp	2.82	1.19	0.58
LRP2	rs183867145	c.894A>G	c.894A>G(p.=)	1.41	0.00	0.02
LRP2	rs34104660	c.402C>A	c.402C>A(p.=)	9.86	8.15	4.75
LRP2	rs33954745	c.2376T>C	c.2376T>C(p.=)	9.86	8.45	7.63
NPY1R	rs5578	c.1121A>C	p.Lys374Thr	2.82	0.69	0.30
NTRK2	rs2289657	c.1848C>A	c.1848C>A(p.=)	8.45	4.37	5.81
POMC	rs80326661	c.641A>G	p.Glu214Gly	2.11	0.69	0.14
SPG11	rs80338869	c.7023C>T	c.7023C>T(p.=)	7.04	3.18	1.18
SPG11	rs79708848	c.1698T>G	p.Asp566Glu	2.82	1.39	0.52
TMEM67	rs117195541	c.2397T>C	c.2397T>C(p.=)	2.82	1.39	0.84

Foram também detetadas 5 variantes em que a frequência do alelo *minor* na amostra era inferior à frequência Europeia e Global, segundo o *1000 Genomes* - tabela 4.2.3.2.

Tabela 4.2.3.2 – Variantes identificadas em que a frequência do alelo minor na amostra é inferior à frequência europeia e global, segundo o *1000 Genomes*

Gene	dbSNP ID	Variante		Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI (%)
BBS1	rs10896125	c.724-8G>C		17.90	23.96	24.26
BBS14/CEP290	rs11104738	c.2512A>G	p.Lys838Glu	2.86	4.87	9.70
BDNF	rs6265	c.196G>A	p.Val66Met	8.73	19.68	20.13
IGF2R	rs8191754	c.754C>G	p.Leu252Val	12.14	14.81	16.03
SLC6A14	rs12720074	c.84T>A	c.84T>A(p.=)	0.82	9.66	5.40

Estes resultados sugerem que os alelos c.724-8G do gene BBS1, c.196G do gene BDNF, c.2512A do gene BBS14/CEP290, c.745C do gene IGF2R e c.84T do gene SLC6A14 constituem potenciais alelos de risco para a obesidade.

4.2.4. Novas variantes detetadas:

Na execução deste estudo foram detetadas 6 novas variantes, todas em heterozigotia, que não se encontram referenciadas nas bases de dados consultadas:

- Gene ALMS1, amostra 65: Variante c.5552C>T, resultando numa variante *missense*, com substituição de uma Prolina por uma Leucina no aminoácido 1851. Esta variante tem uma previsão *PolyPhen* de possivelmente danosa.
- Gene BBS1, amostra 39: Variante c.1437C>T, resultando numa variante sinónima.
- Gene SORCS1, amostra 73: Variante c.1072A>G, resultando numa variante *missense*, com substituição de uma Arginina por uma Glicina no aminoácido 358. Esta variante tem uma previsão *PolyPhen* de possivelmente danosa.
- Gene SORCS1, amostra 70: Variante c.2491A>C, resultando numa variante *missense*, com substituição de uma Trionina por uma Prolina no aminoácido 831. Esta variante tem uma previsão *PolyPhen* de provavelmente danosa.
- Gene TMEM67, amostra 10: Variante c.158A>G, resultando numa variante *missense*, com substituição de uma Glutamina por uma Arginina no aminoácido 53. Esta variante tem uma previsão *PolyPhen* de benigna.
- Gene TMEM67, amostra 5: Variante c.2583T>C, resultando numa variante sinónima.

Sugere-se validação destes resultados através da realização de sequenciação destes genes por Sanger e estudos funcionais, nas amostras afetadas.

4.3. Análise por amostra

Nas 72 amostras analisadas, das quais foram obtidos resultados em 71, não foi identificado nenhum caso de obesidade monogénica ou obesidade sindrómica, baseado na informação bibliográfica disponível.

Na tabela 4.3.1 apresentam-se, por amostra, o nº de genes onde foram detetadas variantes, o nº total de variantes identificado, o nº total de variantes *missense* provavelmente e possivelmente danosas, segundo o *PolyPhen*, o nº de variantes consideradas Fator de Risco para o desenvolvimento de Obesidade/Obesidade Infantil e o nº de variantes Provavelmente Patogénicas e Patogénicas com associação a Obesidade/Obesidade Monogénica/Obesidade Sindrómica.

Tabela 4.3.1 – Variantes identificadas por amostra

Amostra	Nº Genes	Nº de variantes	Var. Prov. Danosas	Var. Possiv. danosas	Fatores de Risco		Variantes Patogénicas ou Provavelmente Patogénicas		
					Obesidade	Obesidade infantil	Obesidade	Obesidade Monogénica	Obesidade Síndrómica
1	23	65	3	1	7	0	0	0	0
2	25	59	2	1	7	1	0	0	0
5	21	64	4	2	8	0	0	0	0
6	26	63	2	0	8	0	0	0	0
7	25	68	3	2	10	0	0	0	0
8	29	74	1	2	6	0	0	0	1
9	35	78	4	0	9	0	0	0	0
10	27	66	3	3	8	0	0	0	0
11	30	69	2	1	7	0	0	0	1
12	29	72	2	3	8	0	0	0	0
17	25	63	2	1	5	0	0	0	0
18	22	44	1	0	6	0	0	0	0
19	17	28	0	0	6	0	0	0	0
20	32	80	2	2	7	0	0	0	0
23	31	74	3	3	6	0	0	0	0
24	26	74	1	1	10	0	0	0	0
25	26	53	3	1	7	0	0	0	0
27	9	14	0	1	4	0	0	0	0
29	25	60	3	1	6	0	0	0	0
30	30	81	3	2	8	0	0	0	0
31	26	55	0	0	7	0	0	0	0
32	37	102	2	5	7	0	0	0	0
33	24	55	5	1	5	1	0	0	0
35	31	67	1	3	5	0	0	0	0
36	36	76	3	7	8	0	0	0	0
37	28	79	1	2	9	0	0	0	0
38	30	77	4	3	8	0	0	0	0
39	24	66	1	1	8	0	0	0	0
40	26	70	1	1	9	0	0	0	0
42	23	77	4	1	12	0	0	0	0
44	32	84	2	6	9	0	0	0	0
45	24	62	3	0	6	0	0	0	0
46	26	53	2	3	7	0	0	0	0
47	36	104	3	5	6	0	0	0	0
49	12	20	0	1	3	0	0	0	0
51	22	69	1	3	9	0	0	0	0
52	26	72	3	1	8	0	0	0	0
54	21	44	4	0	5	0	0	0	0
55	4	4	0	0	3	0	0	0	0
56	28	62	3	0	9	0	0	0	0
57	25	69	2	1	8	0	0	0	0
59	7	11	0	0	4	0	0	0	0
60	28	85	2	3	6	0	0	0	0
61	25	58	3	3	7	0	0	0	0
62	29	76	3	1	7	0	0	0	0

Amostra	Nº Genes	Nº de variantes	Var. Prov. Danosas	Var. Possiv. danosas	Variantes consideradas Fator de Risco		Variantes Patogénicas ou Provavelmente Patogénicas		
					Obesidade	Obesidade infantil	Obesidade	Obesidade Monogénica	Obesidade Sindrómica
63	12	28	1	1	5	0	0	0	0
64	28	59	1	3	6	0	0	0	0
65	21	46	1	3	7	0	0	0	0
66	28	80	3	2	6	0	0	0	0
67	30	62	1	3	9	0	0	0	0
68	33	84	3	1	10	0	0	0	0
69	25	63	1	2	9	0	0	0	0
70	27	60	3	1	8	0	0	0	0
71	23	51	2	0	8	0	0	0	0
72	7	9	0	0	2	0	0	0	0
73	28	61	2	2	7	0	0	0	0
74	28	60	3	1	7	0	0	0	0
75	24	64	3	1	7	0	0	0	1
77	18	37	1	0	5	0	0	0	0
79	25	53	1	1	9	0	0	0	0
81	24	56	3	1	8	0	0	0	0
89	28	65	1	4	7	0	0	0	0
90	14	24	0	0	4	0	0	0	0
91	27	59	1	2	6	0	0	0	0
92	31	75	4	1	7	0	0	0	0
94	25	67	3	2	7	0	0	0	0
95	25	63	2	2	6	0	0	0	0
96	29	64	1	3	5	0	1	0	0
97	23	67	2	0	6	0	0	0	0
820	31	85	1	2	9	0	0	0	0
821	25	60	4	1	8	0	0	0	0

Da totalidade de variantes identificadas neste estudo apenas 5 (registadas na tabela 4.3.2) apresentam classificação *ClinVar* de patogénicas ou provavelmente patogénicas.

Tabela 4.3.2 – Variantes patogénicas ou provavelmente patogénicas identificadas nas amostras em estudo

Amostra	Gene	dbSNP ID	Variante	He	<i>ClinVar</i>		<i>PolyPhen HumDIV</i>
8	BBS2	rs773417074	c.627_628delTT p.Cys210SerfsTer20	1	PP	Síndrome de Bardet-Biedl	
65	LRP2	rs138269726	c.6160G>A p.Asp2054Asn	1	P	Síndrome de Donnai Barrow	Prov. danosa
11	MKKS	rs74315394	c.724G>T p.Ala242Ser	1	P	Síndrome de Mckusick Kaufman	Prov. danosa
75	SPG11	rs199588440	c.1951C>T p.Arg651Ter	1	P	Paraplegia espástica 11	
96	UCP3	rs2229707	c.304G>A p.Val102Ile	1	P	Obesidade severa e Diabetes tipo 2	Benigna

As quatro Síndromes referenciadas na Tabela 4.3.2 têm transmissão autossómica recessiva, sendo que, com exceção da Síndrome de Donnai-Barrow, a obesidade pode fazer parte do fenótipo dos indivíduos diagnosticados.(18)(59)(84)

A variante rs2229707 encontra-se descrita como associada a obesidade severa, tendo sido detetada num estudo realizado por *Argyropoulos et al.*, numa mulher obesa em heterozigotia (39 anos), em 3 descendentes obesos em homozigotia (11, 14 e 20 anos - o BMI é superior nos indivíduos mais velhos) e num descendente não obeso (9 anos) em heterozigotia.(85) A informação deste estudo e da restante bibliografia consultada não são suficientes para definir se esta mutação poderá estar associada a obesidade monogénica e se a hereditariedade será autossómica dominante ou recessiva. Na amostra 96 foi detetada esta variante e também outra possivelmente danosa no gene UCP3 (rs8179180), ambas em heterozigotia. Esta amostra pertence a uma mulher obesa, cujos pai e mãe, 3 irmãos e 2 filhos são obesos. Seria interessante realizar o mesmo estudo, sequenciando os 65 genes, a todos os familiares (incluindo familiares não obesos, que não constam na história familiar disponível). Assim poderíamos testar a penetrância desta variante e inferir sobre a possibilidade desta variante poder vir a ser associada a obesidade monogénica.

4.4. Limitações do presente estudo

No presente estudo foram identificadas as seguintes limitações que condicionaram, não só a qualidade dos resultados obtidos, mas também a sua interpretação:

- A utilização de uma amostra colhida por um método não invasivo (amostras de células do epitélio bucal recolhidas por zaragatoa) foi provavelmente o motivo para o baixo *coverage* detetado em algumas amostras e pela inexistência de resultados na amostra 58. Estudos indicam que a eficiência de recuperação e extração de DNA a partir de zaragatoas é normalmente, independentemente do material, inferior a 50%.(68)
- A sequenciação por esta técnica de NGS não permite detetar alterações estruturais cromossómicas, como grandes deleções, inserções, inversões ou duplicações, nem alterações epigenéticas.(9)(13)
- Inexistência de história clínica e familiar detalhada dos indivíduos em estudo, nomeadamente, co-morbilidades associadas, casos de obesidade infantil ou a identificação de familiares não obesos.
- A não sequenciação de amostras de familiares (ascendentes e descendentes), que auxiliaria no estabelecimento de correlações entre os alelos e os fenótipos.
- A não utilização de um grupo controlo sem obesidade, não permitiu distinguir a prevalência de determinadas variantes, na população portuguesa, em obesos comparativamente com indivíduos não obesos saudáveis.
- A comparação das frequências amostrais ter sido realizada com recurso a uma base de dados, o projeto *1000 Genomes*, em que a obesidade não foi critério de exclusão e em que não existe representação portuguesa.(86)

5. Considerações Finais

O principal objetivo da realização deste estudo seria a identificação de variantes genéticas, mutações e polimorfismos, associados ao desenvolvimento de obesidade, numa população portuguesa, num painel de 65 genes. Foram identificadas, em 71 das 72 amostras analisadas, 429 variantes diferentes, das quais 129 já haviam sido associadas ao fenótipo estudado, segundo a base de dados *ClinVar* e a bibliografia consultada. Destas 129 variantes 7 estão classificadas, no *ClinVar*, como fatores de risco (genes ADBR2, ADRB3, IRS1, IRS2, PCSK1 e POMC), 1 como provavelmente patogénica (gene BBS2) e 1 como patogénica (gene UCP3).

O maior número de variantes foi encontrado nos genes LRP2 e ALMS1, sendo estes também, em conjunto com o gene NEGR1, os genes mais frequentemente afetados na amostra (100% das amostras).

Pela análise da frequência amostral das variantes e comparação com as frequências Europeias e Globais registadas no projeto *1000 Genomes*, foram identificados 23 potenciais variantes associadas a obesidade nos genes ADRB2 (rs1800888, alelo T), ALMS1 (rs41291187, alelo G), BBS1 (rs10896125, alelo C), BBS9 (rs11773504, , alelo A), BBS14/CEP290 (rs11104738, alelo G), BDNF (rs6265, alelo A), IGF2R (rs76130099, , alelo A; rs2297367, alelo T; rs8191754, alelo G), IRS1 (rs2234931,alelo A), LRP2 (rs147058423, alelo A; rs189273089, alelo A; rs41268685, alelo A; rs183867145, alelo G; rs34104660, alelo A; rs33954745, alelo C), NPY1R (rs5578, alelo C), NTRK2 (rs2289657, alelo A), POMC (rs80326661, alelo G), SLC6A14 (rs12720074, alelo A), SPG11 (rs80338869, alelo A; rs79708848, alelo G) e TMEM67 (rs117195541, alelo C).

Foram identificadas 6 novas variantes, em heterozigotia, que ainda não se encontram descritas nas bases de dados e bibliografia consultada, sendo 4 *missense* (genes ALMS1 - NM_015120.4:c.5552C>T; SORCS1 - NM_001013031.2:c.1072A>G e NM_001013031.2: c.2491A>C; TMEM67 - NM_153704.5:c.158A>G) e 2 sinónimas (genes BBS1 - NM_024649.4:c.1437C>T; TMEM67 - NM_153704.5:c.2583T>C). Para validação deveria ser efetuada sequenciação destes genes por Sanger e realizados testes funcionais.

Nas 71 amostras onde foram obtidos resultados, não foi identificado nenhum caso de obesidade monogénica. No entanto, na amostra 96, deveriam ser realizados mais testes para avaliar a penetrância e significado clínico das variantes identificadas no gene UCP3.

Em todas as amostras foram identificadas várias variantes que constituem fatores de risco com associação a obesidade (entre 3 e 12 variantes por indivíduo), que podem influenciar o desenvolvimento deste fenótipo nestes indivíduos.

A realização deste tipo de estudos, que tem como finalidade identificar novas variantes genéticas associadas à obesidade e determinar a sua prevalência na população, é de extrema relevância para o diagnóstico diferencial e precoce, permitindo identificar indivíduos em risco de desenvolver obesidade e definir estratégias preventivas ou de tratamento adequadas à sua realidade, numa época em que se pretende caminhar cada vez mais no sentido da medicina personalizada.

6. Referências Bibliográficas

1. World Health Organization - Obesity and overweight [Internet]. [cited 2019 Dec 15]. Available from: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Rodrigues AP, Gaio V, Kislaya I, Graff-Iversen S, Cordeiro E, Silva AC, et al. Prevalência de excesso de peso e de obesidade em Portugal: resultados do Primeiro Inquérito Nacional com Exame Físico (INSEF 2015). *Bol Epidemiológico - Inst Nac Saúde Dr Ricardo Jorge*. 2017;29–33.
3. Paolacci S, Pompucci G, Paolini B, Del Ciondolo I, Miggiano GAD, Aquilanti B, et al. Mendelian non-syndromic obesity. *Acta Biomed* [Internet]. 2019;90(10S):87–9. Available from: <https://doi.org/10.23750/abm.v90i10-S.8766>
4. Baxter J, Armijo PR, Flores L, Krause C, Samreen S, Tanner T, et al. Updates on Monogenic Obesity in a Multifactorial Disease. *Obes Surg* [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04200-z>
5. Rohde K, Keller M, la Cour Poulsen L, Blüher M, Kovacs P, Böttcher Y. Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism* [Internet]. 2019;92:37–50. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.10.007>
6. Saeed S, Bonnefond A, Manzoor J, Shabir F, Ayesha H, Philippe J, et al. Genetic variants in LEP, LEPR, and MC4R explain 30% of severe obesity in children from a consanguineous population. *Obesity*. 2015;23(8):1687–95.
7. Loos RJF, Janssens ACJW. Predicting Polygenic Obesity Using Genetic Information. *Cell Metab* [Internet]. 2017;25(3):535–43. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.02.013>
8. Apal Sammy YD, Mohamed Z. Obesity and genomics: Role of technology in unraveling the complex genetic architecture of obesity. *Hum Genet* [Internet]. 2015;134(4):361–74. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00439-015-1533-x>
9. Yohe S, Thyagarajan B. Review of clinical next-generation sequencing. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2017;141(11):1544–57. Available from: <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0501-RA>
10. Gill R, Cheung YH, Shen Y, Lanzano P, Mirza NM, Ten S, et al. Whole-Exome sequencing identifies novel LEPR mutations in individuals with severe early onset obesity. *Obesity* [Internet]. 2014;22(2):576–84. Available from: <http://doi.org/10.1002/oby.20492>
11. Nordang GBN, Busk ØL, Tveten K, Hanevik HI, Fell AKM, Hjelmæsæth J, et al. Next-generation sequencing of the monogenic obesity genes LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 and POMC in a Norwegian cohort of patients with morbid obesity and normal weight controls. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2017;121(1):51–6. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.03.007>
12. Foucan L, Larifla L, Durand E, Rambhojan C, Armand C, Michel CT, et al. High prevalence of rare monogenic forms of obesity in obese guadeloupean afro-caribbean children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(2):539–45.
13. Kleinendorst L, Massink MPG, Cooman MI, Savas M, Van Der Baan-Slootweg OH, Roelants RJ, et al. Genetic obesity: Next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity. *J Med Genet* [Internet]. 2018;55(9):578–86. Available from: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105315>
14. Singh RK, Kumar P, Mahalingam K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes rendus - Biol* [Internet]. 2017;(2016). Available from: <http://doi.org/10.1016/j.crv.2016.11.007>
15. Masuo K, Lambert GW. Relationships of adrenoceptor polymorphisms with obesity. *J Obes* [Internet]. 2011; Available from: <https://doi.org/10.1155/2011/609485>
16. Katsarou M-S, Karathanasopoulou A, Andrianopoulou A, Desiniotis V, Tzinis E, Dimitrakis E, et al.

- Beta 1, Beta 2 and Beta 3 Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms in a Southeastern European Population. *Front Genet* [Internet]. 2018;9(November):1–9. Available from: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00560>
17. Hearn T. ALMS1 and Alström syndrome: a recessive form of metabolic, neurosensory and cardiac deficits. *J Mol Med* [Internet]. 2019;97(1). Available from: <https://doi.org/10.1007/s00109-018-1714-x>
 18. Braun DA, Hildebrandt F. Ciliopathies. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2016; Available from: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028191>
 19. Manara E, Paolacci S, D'esposito F, Abeshi A, Ziccardi L, Falsini B, et al. Mutation profile of BBS genes in patients with Bardet-Biedl syndrome: An Italian study. *Ital J Pediatr* [Internet]. 2019;45(1):1–8. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13052-019-0659-1>
 20. Tocchini C, Ciosk R. TRIM-NHL proteins in development and disease. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2015;47–48:52–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.10.017>
 21. Khan SA, Muhammad N, Khan MA, Kamal A, Rehman ZU, Khan S. Genetics of human Bardet-Biedl syndrome, an updates. *Clin Genet* [Internet]. 2016;90(1):3–15. Available from: <https://doi.org/10.1111/cge.12737>
 22. Stahel P, Sud SK, Lee SJ, Jackson T, Urbach DR, Okrainec A, et al. Phenotypic and genetic analysis of an adult cohort with extreme obesity. *Int J Obes* [Internet]. 2018; Available from: <http://doi.org/10.1038/s41366-018-0209-8>
 23. Cardenas-rodriguez M, Irigoín F, Osborn DPS, Gascue C, Katsanis N, Beales PL, et al. The bardet-biedl syndrome-related protein CCDC28b modulates mTORC2 function and interacts with SIN1 to control cilia length independently of the mTOR complex. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2013;22(20):4031–42. Available from: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt253>
 24. Ji L, Wu HT, Qin XY, Lan R. Dissecting carboxypeptidase E: Properties, functions and pathophysiological roles in disease. *Endocr Connect* [Internet]. 2017;6(4):R18–38. Available from: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt253>
 25. Igaz P, Patocs A. Genetics of Endocrine Diseases and Syndromes.
 26. Loos RJF, Yeo GSH. The bigger picture of FTO - The first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2014;10(1):51–61. Available from: <http://doi.org/10.1038/nrendo.2013.227>
 27. Hatting M, Tavares CDJ, Sharabi K, Rines AK, Puigserver P. Insulin regulation of gluconeogenesis. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2018;1411(1):21–35. Available from: <https://doi.org/10.1111/nyas.13435>
 28. Vieira P, Cameron J, Rahikkala E, Keski-Filppula R, Zhang LH, Santra S, et al. Novel homozygous PCK1 mutation causing cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase deficiency presenting as childhood hypoglycemia, an abnormal pattern of urine metabolites and liver dysfunction. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2017;120(4):337–41. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.02.003>
 29. Jelaska BK, Ostojić SB, Berović N, Kokić V. Continuous glucose monitoring in the treatment of obesity in patients with glycogen storage disease type Ia. *Endocrinol Diabetes Metab Case Reports* [Internet]. 2014;2014(December). Available from: <http://doi.org/10.1530/edm-13-0056>
 30. Bastepe M. GNAS mutations and heterotopic ossification. *Bone* [Internet]. 2018;109:80–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2017.09.002>
 31. Livingstone C, Borai A. Insulin-like growth factor-II: Its role in metabolic and endocrine disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2014;80(6):773–81. Available from: <https://doi.org/10.1111/cen.12446>

32. Kadakia R, Josefson J. The relationship of insulin-like growth factor 2 to fetal growth and adiposity. *Horm Res Paediatr* [Internet]. 2016;85(2):75–82. Available from: <https://doi.org/10.1159/000443500>
33. Huang L, Peng JH, Liang QH, Yin RX, Liu CW, Pan SL, et al. Insulin-like factor-2 receptor rs9456497 G genotype overrepresents in males of average population and its correlation with cardiovascular risks. *Arch Gerontol Geriatr* [Internet]. 2018;76(March):202–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.archger.2018.03.004>
34. Kubota T, Kubota N, Kadowaki T. Imbalanced Insulin Actions in Obesity and Type 2 Diabetes: Key Mouse Models of Insulin Signaling Pathway. *Cell Metab* [Internet]. 2017;25(4):797–810. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.03.004>
35. Nunziata A, Funcke J, Borck G, Schnurbein J Von, Brandt S, Lennerz B, et al. Functional and Phenotypic Characteristics of Human Leptin Receptor Mutations. *J Endocr Soc* [Internet]. 2019;3(September 2018):27–41. Available from: <https://doi.org/10.1210/je.2018-00123>
36. Ramachandrapa S, Farooqi IS. Genetic approaches to understanding human obesity. *J Clin Invest* [Internet]. 2011;121(6):2080–6. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI46044.2080>
37. Pigeyre M, Yazdi FT, Kaur Y, Meyre D. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin Sci* [Internet]. 2016;130(12):943–86. Available from: <http://doi.org/10.1042/CS20160136>
38. Yang Z, Tao YX. Mutations in Melanocortin-3 Receptor Gene and Human Obesity [Internet]. Vol. 140, *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Elsevier Inc.; 2016. 97–129 p. Available from: <http://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2016.01.002>
39. Yoshiuchi I. Evidence for natural selection at the melanocortin-3 receptor gene in European and African populations. *Acta Diabetol* [Internet]. 2016;53(4):583–7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00592-016-0846-0>
40. Carolina A, Mastronardi C, Johar A, Arcos-burgos M, Paz-filho G. Genetics of non-syndromic childhood obesity and the use of high-throughput DNA sequencing technologies. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2017;31(10):1549–61. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2017.04.026>
41. Muscogiuri G, Formoso G, Pugliese G, Ruggeri RM, Scarano E. Prader- Willi syndrome : An uptodate on endocrine and metabolic complications. 2019;15.
42. Tacer KF, Potts PR. Cellular and disease functions of the Prader – Willi Syndrome gene MAGEL2. *Biochem J* [Internet]. 2017;(474):2177–90. Available from: <https://doi.org/10.1042/BCJ20160616>
43. Wijesuriya TM, De Ceuninck L, Masschaele D, Sanderson MR, Carias KV, Tavernier J, et al. The Prader-Willi syndrome proteins MAGEL2 and necdin regulate leptin receptor cell surface abundance through ubiquitination pathways. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2017;26(21):4215–30. Available from: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx311>
44. Abreu AP, Macedo DB, Brito VN, Kaiser UB, Latronico AC. A new pathway in the control of the initiation of puberty: The MKRN3 gene. *J Mol Endocrinol* [Internet]. 2015;54(3):R131–9. Available from: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx311>
45. Cassidy SB, Schwartz S, Miller JL, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. *Genet Rev* [Internet]. 2012;14(1):10–26. Available from: <https://doi.org/10.1038/gim.0b013e31822bead0>
46. Iqbal Kring SI, Larsen LH, Holst C, Toubro S, Hansen T, Astrup A, et al. Genotype-phenotype associations in obesity dependent on definition of the obesity phenotype. *Obes Facts* [Internet]. 2008;1(3):138–45. Available from: <https://doi.org/10.1159/000137665>
47. Fontaine-Bisson B, Thorburn J, Gregory A, Zhang H, Sun G. Melanin-concentrating hormone

- receptor 1 polymorphisms are associated with components of energy balance in the Complex Diseases in the Newfoundland Population: Environment and Genetics (CODING) study¹⁻³. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2014;99(2):384–91. Available from: <http://doi.org/10.3945/ajcn.113.073387>
48. Kim H, Chun Y, Che L, Kim J, Lee S, Lee S. The new obesity-associated protein, neuronal growth regulator 1 (NEGR1), is implicated in Niemann-Pick disease Type C (NPC2)-mediated cholesterol trafficking. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2017;482(4):1367–74. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.12.043>
 49. Shawky RM, Sadik DI. Genetics of obesity. *Egypt J Med Hum Genet* [Internet]. 2012;13(1):11–7. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2011.08.005>
 50. Yazdi FT, Clee SM, Meyre D. Obesity genetics in mouse and human: Back and forth, and back again. *PeerJ* [Internet]. 2015;2015(3):1–69. Available from: <https://doi.org/10.7717/peerj.856>
 51. Thakurela S, Tiwari N, Schick S, Garding A, Ivanek R, Berninger B, et al. Mapping gene regulatory circuitry of Pax6 during neurogenesis. *Cell Discov* [Internet]. 2016;2. Available from: <http://doi.org/10.1038/celldisc.2015.45>
 52. London E, Rothenbuhler A, Lodish M, Gourgari E, Keil M, Lyssikatos C, et al. Differences in adiposity in cushing syndrome caused by PRKAR1A mutations: Clues for the role of cyclic AMP signaling in obesity and diagnostic implications. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2014;99(2):303–10. Available from: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1956>
 53. Linglart A, Menguy C, Couvineau A, Auzan C, Gunes Y, Cancel M, et al. Recurrent PRKAR1A Mutation in Acrodysostosis with Hormone Resistance. *N Engl J Med* [Internet]. 2011;364(23):2218–26. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1012717>
 54. Chen CY, Chen J, He L, Stiles BL. PTEN: Tumor suppressor and metabolic regulator. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018;9(JUL):1–12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00338>
 55. Pal A, Barber TM, Van De Bunt M, Rudge SA, Zhang Q, Lachlan KL, et al. PTEN mutations as a cause of constitutive insulin sensitivity and obesity. *N Engl J Med* [Internet]. 2012;367(11):1002–11. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1113966>
 56. El-Sayed Moustafa JS, Froguel P. From obesity genetics to the future of personalized obesity therapy. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2013;9(7):402–13. Available from: <http://doi.org/10.1038/nrendo.2013.57>
 57. Suviolahti E, Oksanen LJ, Öhman M, Cantor RM, Ridderstråle M, Tuomi T, et al. The SLC6A14 gene shows evidence. *J Clin Invest* [Internet]. 2003;112(11):1762–72. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI117491>
 58. Subkhangulova A, Malik AR, Hermey G, Popp O, Dittmar G, Rathjen T, et al. SORCS 1 and SORCS 3 control energy balance and orexigenic peptide production. *EMBO Rep* [Internet]. 2018;19(4):1–18. Available from: <https://doi.org/10.15252/embr.201744810>
 59. Boutry M, Pierga A, Matusiak R, Branchu J, Houllegatte M, Ibrahim Y, et al. Loss of spatascin impairs cholesterol trafficking and calcium homeostasis. *Commun Biol* [Internet]. 2019;2(1):1–13. Available from: <http://doi.org/10.1038/s42003-019-0615-z>
 60. De Bot ST, Burggraaff RC, Herkert JC, Schelhaas HJ, Post B, Diekstra A, et al. Rapidly deteriorating course in Dutch hereditary spastic paraplegia type 11 patients. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2013;21(11):1312–5. Available from: <http://doi.org/10.1038/ejhg.2013.27>
 61. Anyetei-Anum CS, Roggero VR, Allison LA. Thyroid hormone receptor localization in target tissues. *J Endocrinol* [Internet]. 2018;237(1):R19–34. Available from: <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0708>

62. Khan SF, Damerell V, Omar R, Toit M Du, Khan M, Maranyane H, et al. The roles and regulation of TBX3 in development and disease. *Gene* [Internet]. 2019;144223. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144223>
63. Abdelhamed ZA, Natarajan S, Wheway G, Inglehearn CF, Toomes C, Johnson CA, et al. The Meckel-Gruber syndrome protein TMEM67 controls basal body positioning and epithelial branching morphogenesis in mice via the non-canonical Wnt pathway. *DMM Dis Model Mech* [Internet]. 2015;8(6):527–41. Available from: <https://doi.org/10.1242/dmm.019083>
64. Bouillaud F, Alves-Guerra MC, Ricquier D. UCPs, at the interface between bioenergetics and metabolism. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* [Internet]. 2016;1863(10):2443–56. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.04.013>
65. Oktavianthi S, Trimarsanto H, Febinia CA, Suastika K, Saraswati MR, Dwipayana P, et al. Uncoupling protein 2 gene polymorphisms are associated with obesity. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2012;11:1–10. Available from: <http://doi.org/10.1186/1475-2840-11-41>
66. Montesanto A, Bonfigli AR, Crocco P, Garagnani P, De Luca M, Boemi M, et al. Genes associated with Type 2 Diabetes and vascular complications. *Aging (Albany NY)* [Internet]. 2018;10(2):178–96. Available from: <https://doi.org/10.18632/aging.101375>
67. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2 [Internet]. Vol. 2, *Current Protocols in Human Genetics*. 2013. Available from: <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0720s76>
68. Bruijns BB, Tiggelaar RM, Gardeniers H. The Extraction and Recovery Efficiency of Pure DNA for Different Types of Swabs. *J Forensic Sci* [Internet]. 2018;63(5):1492–9. Available from: <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13837>
69. Nonen S, Yamamoto I, Liu J, Maeda M, Motomura T, Igarashi T, et al. Adrenergic β 1 receptor polymorphism (Ser49Gly) is associated with obesity in type II diabetic patients. *Biol Pharm Bull* [Internet]. 2008;31(2):295–8. Available from: <https://doi.org/10.1248/bpb.31.295>
70. Dionne IJ, Garant MJ, Nolan AA, Pollin TI, Lewis DG, Shuldiner AR, et al. Association between obesity and a polymorphism in the β 1-adrenoceptor gene (Gly389Arg ADRB1) in Caucasian women. *Int J Obes* [Internet]. 2002;26(5):633–9. Available from: <http://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801971>
71. Lima JJ, Feng H, Duckworth L, Wang J, Sylvester JE, Kisson N, et al. Association analyses of adrenergic receptor polymorphisms with obesity and metabolic alterations. *Metabolism* [Internet]. 2007;56(6):757–65. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.metabol.2007.01.007>
72. Daghestani M, Daghestani M, Daghistani M, Eldali A, Hassan ZK, Elamin MH, et al. ADRB3 polymorphism rs4994 (Trp64Arg) associates significantly with bodyweight elevation and dyslipidaemias in Saudis but not rs1801253 (Arg389Gly) polymorphism in ARDB1. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2018;17(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0679-7>
73. Gjesing AP, Andersen G, Albrechtsen A, Glümer C, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, et al. Studies of associations between the Arg389Gly polymorphism of the β 1-adrenergic receptor gene (ADRB1) and hypertension and obesity in 7677 Danish white subjects. *Diabet Med* [Internet]. 2007;24(4):392–7. Available from: <http://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.02031.x>
74. Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, Helgadóttir A, et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat Genet* [Internet]. 2009;41(1):18–24. Available from: <https://doi.org/10.1038/ng.274>
75. Kalenda A, Landgraf K, Löffler D, Kovacs P, Kiess W, Körner A. The BDNF Val66Met

- polymorphism is associated with lower BMI, lower postprandial glucose levels and elevated carbohydrate intake in children and adolescents. *Pediatr Obes* [Internet]. 2018;13(3):159–67. Available from: <http://doi.org/10.1111/ijpo.12238>
76. Zamani M, Hosseini SV, Behrouj H, Erfani M, Dastghaib S, Ahmadi M, et al. BDNF Val66Met genetic variation and its plasma level in patients with morbid obesity: A case-control study. *Gene* [Internet]. 2019;705(April):51–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.04.045>
 77. Akbarian SA, Salehi-Abargouei A, Pourmasoumi M, Kelishadi R, Nikpour P, Heidari-Beni M. Association of Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms with body mass index: A systematic review and meta-analysis. *Adv Med Sci* [Internet]. 2018;63(1):43–56. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.advms.2017.07.002>
 78. Yang S-A. Association between exonic polymorphism (rs629849, Gly1619Arg) of IGF2R gene and obesity in Korean population. *J Exerc Rehabil* [Internet]. 2015;11(5):282–6. Available from: <https://doi.org/10.12965/jer.150239>
 79. Rezgui D, Williams C, Savage SA, Prince SN, Zaccheo OJ, Jones EY, et al. Structure and function of the human Gly1619Arg polymorphism of M6P/IGF2R domain 11 implicated in IGF2 dependent growth. *J Mol Endocrinol* [Internet]. 2009;42(4):341–56. Available from: <https://doi.org/10.1677/JME-08-0154>
 80. Zain SM, Mohamed Z, Jalaludin MY, Fauzi F, Hamidi A, Zaharan NL. Comprehensive evaluation of the neuropeptide-Y gene variants in the risk of obesity: A case-control study and meta-Analysis. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2015;25(10):501–10. Available from: <https://doi.org/10.1097/FPC.000000000000164>
 81. Rui L. SH2B1 regulation of energy balance, body weight, and glucose metabolism. *World J Diabetes* [Internet]. 2014;5(4):511. Available from: <https://doi.org/10.1097/FPC.000000000000164>
 82. Swarbrick MM, Evans DS, Valle MI, Favre H, Wu SH, Njajou OT, et al. Replication and extension of association between common genetic variants in SIM1 and human adiposity. *Obesity* [Internet]. 2011;19(12):2394–403. Available from: <http://doi.org/10.1038/oby.2011.79/nature06264>
 83. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* [Internet]. 2015;17(5):405–24. Available from: <http://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
 84. Khalifa O, Al-Sahlawi Z, Imtiaz F, Ramzan K, Allam R, Al-Mostafa A, et al. Variable expression pattern in Donnai-Barrow syndrome: Report of two novel LRP2 mutations and review of the literature. *Eur J Med Genet* [Internet]. 2015;58(5):293–9. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.12.008>
 85. Argyropoulos G, Brown AM, Willi SM, Zhu J, He Y, Reitman M, et al. Effects of mutations in the human uncoupling protein 3 gene on the respiratory quotient and fat oxidation in severe obesity and type 2 diabetes. *J Clin Invest* [Internet]. 1998;102(7):1345–51. Available from: <http://doi.org/10.1172/JCI4115>
 86. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Bentley DR, Chakravarti A, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature* [Internet]. 2015;526(7571):68–74. Available from: <http://doi.org/10.1038/nature15393>

Consentimento Informado

Vem-se, por este meio, propor a sua participação num projeto intitulado “*Estudo da obesidade monogénica com recurso a tecnologia de ponta – Next Generation Sequencing*” centralizado no Centro de Investigação em Saúde e Tecnologia da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (ESTeSL) do Instituto Politécnico de Lisboa (IPL). Este projeto, financiado pelo IPL, pretende avaliar a possível influência de alguns genes no desenvolvimento de obesidade.

A sua colaboração implicará a colheita de uma pequena amostra de sangue capilar, de onde será extraído o ácido desoxirribonucleico (ADN) a ser analisado num equipamento com tecnologia de ponta específico para o efeito, a *Next Generation Sequencing* (NGS).

A sua participação é voluntária e todos os seus dados e resultados do estudo serão confidenciais (apenas com conhecimento do próprio e da equipa de investigação).

ALGUMAS INFORMAÇÕES:

O que é a obesidade monogénica?

A obesidade está descrita pela Organização Mundial de Saúde como uma acumulação excessiva de gordura. Além de fatores associados ao estilo de vida, existem fatores genéticos envolvidos na gênese da obesidade. Nos casos de obesidade monogénica, existem alterações num gene específico que vão conferir uma predisposição para um aumento da gordura corporal.

O que vamos procurar e porque é necessária uma amostra de sangue?

O objetivo do estudo consiste na avaliação de genes que podem conferir risco de obesidade. Para tal, é necessário uma pequena amostra de sangue que, sendo de fácil obtenção (através de picada de um dedo), é um excelente fluido biológico para colheita de ADN. De forma a avaliar a existência ou a ausência de genes alterados (no ADN), vai ser utilizado um equipamento laboratorial cujo nome é *Next Generation Sequencing* (NGS). Este equipamento permite analisar todo o genoma humano de uma forma mais rápida e mais eficaz, comparativamente a métodos mais tradicionais.

O que podemos encontrar?

Neste estudo, todo o genoma presente na amostra de ADN será analisado de forma a encontrar alterações associadas ao risco de obesidade. No entanto, considerando as capacidades do equipamento a ser utilizado, existe a possibilidade de serem encontrados genes alterados que poderão estar associados a outro tipo de patologias que não a obesidade. Estas alterações podem ser relevantes para a sua saúde podendo, em certos casos, serem passíveis de uma atuação preventiva.

Eu _____

nascido(a) a ____/____/____ com Cartão de Cidadão/BI n° _____, declaro que fui devidamente informado(a) acerca do projeto intitulado “*Estudo da obesidade monogénica com recurso a tecnologia de ponta – “Next Generation Sequencing”*” a ser realizado

pelo Grupo de Investigação em Genética e Metabolismo da ESTeSL-IPL e que me foi explicado todo o procedimento, assim como as análises que serão efetuadas ao meu ADN.

Igualmente, declaro que:

- li a informação sobre o estudo e compreendo que é necessária a doação de uma amostra de sangue que será analisada, no laboratório de investigação da ESTeSL-IPL, para estudo genético com o objetivo de identificar genes que poderão contribuir para o desenvolvimento de obesidade;
- reconheço que a doação de sangue é totalmente voluntária e que sou livre de participar neste projeto, sabendo que em qualquer altura posso interromper a minha participação sem a obrigatoriedade de a justificar e que tenho o direito de negar que a minha amostra seja analisada, mesmo depois da doação;
- percebo que a minha aceitação/negação em participar neste estudo não afeta o meu plano terapêutico atual ou futuro sabendo, ainda, que não receberei quaisquer compensações materiais pela participação;
- compreendo que apesar do método de análise utilizado no estudo permitir analisar todo o genoma, o alvo deste estudo não contempla a análise de toda a informação genética, tendo apenas como foco os genes associados à obesidade monogénica (LEP, LEPR, POMC, MC4R) e, eventualmente, outros genes associados à obesidade (PCSK1, NPY, SIM1, BDNF, NTRK2, FTO, SORCS1, IGF2, ADRB1, ADRB2, ADRB3, UCP1, UCP2, UCP3, MC1R, MC2R, MC3R, SLC6A14, NEGR1, TUB, SH2B1, MRAP2, KSR2, LRP2, TBX15, NEGR1, SDCCAG8, FANCL, TMEM18, LRP1B, TFAP2B, NCR3, AIF1, VEGFA, PRL, MSRA, MTCH2, BDNF, ITPR2-SSPN, HOXC13, PRKD1, NRXN3, SH2B1, MAF, NPC1);
- tenho conhecimento de que, com este método, é possível encontrar outras alterações genéticas, para além daquelas incluídas no objetivo deste estudo e que essas alterações podem estar relacionadas com um maior risco para o desenvolvimento de outras patologias;
- aceito participar no estudo, consentindo doar uma amostra de sangue para estudo genético relacionado à obesidade e doenças associadas.

No final do estudo, após ser terminada a análise genética, pretendo que:

- a) nada me seja transmitido, independentemente dos resultados;
- b) me seja transmitido a existência/ausência de genes que conferem risco de obesidade;
- c) me seja transmitido a existência/ausência de genes que conferem risco de obesidade e de outros que poderão representar um fator de risco patológico.

Mais ainda tomei conhecimento de :

a) O Dr. José Silva Nunes, endocrinologista do Hospital Curry Cabral e investigador do projeto será o responsável pelo tratamento (telf.217924379, email: janunes@estesl.ipl.pt);

b) Os contactos do encarregado da proteção de dados são;

Nuno Pires

Encarregado Proteção Dados / Data Protection Officer

Telf. + 351 21 046 47 00 | + 351 21 046 47 08

Email. npires@net.ipl.pt

c) Os dados pessoais destinam-se exclusivamente para o Dr. José Silva Nunes poder contactar os pacientes no âmbito da consulta de rotina, e caso se mostre necessário. Mais nenhum investigador terá acesso aos dados pessoais dos participantes.

d) Não existem destinatários ou categorias de destinatários dos dados pessoais;

e) Os dados pessoais associados ao projeto fazem parte da ficha do doente no hospital e só o médico terá acesso a eles.

f) Existe total direito do paciente de solicitar ao responsável pelo tratamento acesso aos dados pessoais que lhe digam respeito, bem como a sua retificação ou o seu apagamento, e a limitação do tratamento no que disser respeito ao titular dos dados, ou do direito de se opor ao tratamento, bem como do direito à portabilidade dos dados;

g) Existe o direito de retirar consentimento em qualquer altura, sem comprometer a licitude do tratamento efetuado com base no consentimento previamente dado;

h) Existe o direito de apresentar reclamação junto da Comissão Nacional de Proteção de Dados;

i) Não existirão decisões automatizadas, incluindo a definição de perfis, e informações úteis relativas à lógica subjacente, bem como a importância e as consequências previstas de tal tratamento para o titular dos dados.

Data: ____ / ____ / ____ Assinatura do participante: _____

O médico: José Silva Nunes Assinatura: _____

Anexo II

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
ADRB1	missense variant	rs1801252	NM_000684.2:c.145A>G NP_000675.1:p.Ser49Gly	4	0	0	4	2.82	12.72	17.77	A	Frequência cardíaca em repouso	Benigna
ADRB1	missense variant	rs1801253	NM_000684.2:c.1165G>C NP_000675.1:p.Gly389Arg	42	0	20	22	43.66	68.49	70.17	RF	β-bloqueadores	Benigna
ADRB1	synonymous variant	rs140442073	NM_000684.2:c.228T>C NM_000684.2:c.228T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.20	0.54	NR	-	
ADRB2	missense variant	rs1800888	NM_000024.5:c.491C>T NP_000015.1:p.Thr164Ile	4	0	1	3	3.52	1.79	0.4	RF	Diminuição de resposta aos agonistas do β2-adrenoreceptor	Benigna
ADRB2	missense variant	rs3729943	NM_000024.5:c.659C>G NP_000015.1:p.Ser220Cys	1	0	0	1	0.70	0.00	0.98	NR	-	Prov. danosa
ADRB2	missense variant	rs1042713	NM_000024.5:c.46G>A NP_000015.1:p.Gly16Arg	32	0	12	20	30.99	38.57	47.56	RF	G - Síndrome metabólico	Benigna
ADRB2	missense variant	rs1042714	NM_000024.5:c.79G>C NP_000015.1:p.Glu27Gln	51	0	31	20	57.75	59.04	79.57	RF	G - Síndrome metabólico e obesidade	Benigna
ADRB2	synonymous variant	rs1042718	NM_000024.5:c.523C>A NM_000024.5:c.523C>A(p.=)	25	0	4	21	20.42	16.90	29.77	NR	-	
ADRB2	synonymous variant	rs1042717	NM_000024.5:c.252G>A NM_000024.5:c.252G>A(p.=)	29	0	5	24	23.94	19.88	31.47	NR	-	
ADRB2	synonymous variant	rs1042719	NM_000024.5:c.1053G>C NM_000024.5:c.1053G>C(p.=)	33	0	7	26	28.17	27.93	37.42	NR	-	
ADRB2	synonymous variant	rs1042720	NM_000024.5:c.1239G>A NM_000024.5:c.1239G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	31.31	50.88	NR	-	
ADRB3	missense variant	rs374271379	NM_000025.2:c.1033A>G NP_000016.1:p.Ile345Val	1	0	0	1	0.70	0.00	0.06	NR	-	Prov. danosa
ADRB3	missense variant	rs4995	NM_000025.2:c.794C>T NP_000016.1:p.Thr265Met	1	0	0	1	0.70	0.00	0.42	NR	-	Benigna
ADRB3	missense variant	rs4994	NM_000025.2:c.190T>C NP_000016.1:p.Trp64Arg	10	0	0	10	7.04	8.15	11.5	RF	Obesidade	Benigna
ADRB3	splice region variant, intron variant	rs1056491821	NM_000025.2:c.1205+3A>G	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
ALMS1	intron variant	rs10199680	NM_015120.4:c.9779-9C>T	2	0	0	2	1.41	0.00	3.79	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	missense variant	-	NM_015120.4:c.5552C>T NP_055935.4:p.Pro1851Leu	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Possiv. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
ALMS1	missense variant	rs1431117583	NM_015120.4:c.11455C>T NP_055935.4:p.Leu3819Phe	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs199572177	NM_015120.4:c.2149C>T NP_055935.4:p.His717Tyr	1	0	0	1	0.70	-	-	VUS	Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs745623990	NM_015120.4:c.4473G>T NP_055935.4:p.Glu1491Asp	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs746923966	NM_015120.4:c.12373C>T NP_055935.4:p.Leu4125Phe	1	0	0	1	0.70	-	-	VUS	-	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs752623561	NM_015120.4:c.11362C>T NP_055935.4:p.Arg3788Trp	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs938557636	NM_015120.4:c.5782C>T NP_055935.4:p.Arg1928Trp	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs201028172	NM_015120.4:c.11408G>C NP_055935.4:p.Arg3803Thr	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	VUS	Síndrome de Alstrom	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs189851617	NM_015120.4:c.11965C>G NP_055935.4:p.Pro3989Ala	1	0	0	1	0.70	0.20	0.04	NR	-	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs115444326	NM_015120.4:c.2035C>G NP_055935.4:p.Arg679Gly	1	0	0	1	0.70	0.00	0.12	PB	Diabetes monogénica	Benigna
ALMS1	missense variant	rs45501594	NM_015120.4:c.10625C>G NP_055935.4:p.Thr3542Ser	2	0	0	2	1.41	0.30	0.18	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Possiv. danosa
ALMS1	missense variant	rs28730855	NM_015120.4:c.6749A>G NP_055935.4:p.Asp2250Gly	1	0	0	1	0.70	0.00	0.38	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs61741524	NM_015120.4:c.11818G>A NP_055935.4:p.Gly3940Ser	2	0	0	2	1.41	0.00	0.42	B	Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs75145370	NM_015120.4:c.7265A>G NP_055935.4:p.Asn2422Ser	1	0	0	1	0.70	0.00	0.48	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs58093963	NM_015120.4:c.6461A>G NP_055935.4:p.Asp2154Gly	1	0	0	1	0.70	0.00	0.5	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs28730852	NM_015120.4:c.3190T>C NP_055935.4:p.Ser1064Pro	2	0	0	2	1.41	0.00	0.62	B	Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs41291187	NM_015120.4:c.1868A>G NP_055935.4:p.His623Arg	5	0	0	5	3.52	2.09	0.7	B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs45608038	NM_015120.4:c.5356A>G NP_055935.4:p.Asn1786Asp	1	0	0	1	0.70	1.79	1.00	B	Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs28730854	NM_015120.4:c.6299C>T NP_055935.4:p.Ser2100Leu	7	0	0	7	4.93	4.97	1.48	B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Prov. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
ALMS1	missense variant	rs34071195	NM_015120.4:c.10300A>G NP_055935.4:p.Lys3434Glu	1	0	0	1	0.70	0.00	1.84	PB/B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Possiv. danosa
ALMS1	missense variant	rs17009061	NM_015120.4:c.5783G>A NP_055935.4:p.Arg1928Gln	2	0	0	2	1.41	0.79	3.01	B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Benigna
ALMS1	missense variant	rs28730853	NM_015120.4:c.4959G>T NP_055935.4:p.Lys1653Asn	2	0	0	2	1.41	0.79	3.03	B	Diabetes monogénica e Síndrome de Alstrom	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs10496192	NM_015120.4:c.6209T>C NP_055935.4:p.Ile2070Thr	20	0	1	19	14.79	16.10	10.36	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs3820700	NM_015120.4:c.7721G>A NP_055935.4:p.Ser2574Asn	16	0	0	16	11.27	12.62	12.68	B	-	Prov. danosa
ALMS1	missense variant	rs2017116	NM_015120.4:c.8014G>C NP_055935.4:p.Asp2672His	18	0	1	17	13.38	12.62	13.6	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs10193972	NM_015120.4:c.8567A>G NP_055935.4:p.Asn2856Ser	33	0	7	26	28.17	22.66	35.82	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs2056486	NM_015120.4:c.8478G>T NP_055935.4:p.Arg2826Ser	32	0	6	26	26.76	22.66	35.82	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs6546838	NM_015120.4:c.5623A>G NP_055935.4:p.Ile1875Val	15	0	2	13	11.97	22.76	35.88	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs3813227	NM_015120.4:c.1174C>T NP_055935.4:p.Arg392Cys	13	0	6	7	13.38	22.66	36.36	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs6546837	NM_015120.4:c.4241G>C NP_055935.4:p.Gly1414Ala	11	0	2	9	9.15	22.66	36.36	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs6724782	NM_015120.4:c.6333T>A NP_055935.4:p.Ser2111Arg	33	0	6	27	27.46	22.76	36.38	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs6546839	NM_015120.4:c.6851G>C NP_055935.4:p.Arg2284Pro	32	0	6	26	26.76	22.76	36.44	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs1052161	NM_015120.4:c.12086G>A NP_055935.4:p.Arg4029Lys	22	0	8	14	21.13	65.61	58.23	B	-	Benigna
ALMS1	missense variant	rs2037814	NM_015120.4:c.2012T>G NP_055935.4:p.Val671Gly	65	0	48	17	79.58	87.57	87.22	B	-	Benigna
ALMS1	synonymous variant	rs1054040147	NM_015120.4:c.69G>A NM_015120.4:c.69G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
ALMS1	synonymous variant	rs45445398	NM_015120.4:c.10785G>C NM_015120.4:c.10785G>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	PB	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs183390773	NM_015120.4:c.945T>C NM_015120.4:c.945T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.06	PB	Síndrome de Alstrom	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
ALMS1	synonymous variant	rs137932254	NM_015120.4:c.8442A>G NM_015120.4:c.8442A>G(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.30	0.16	PB	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs76266696	NM_015120.4:c.2658A>G NM_015120.4:c.2658A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.78	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs116033693	NM_015120.4:c.1896A>G NM_015120.4:c.1896A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	1.48	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs28730851	NM_015120.4:c.2316G>A NM_015120.4:c.2316G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	1.54	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs35760114	NM_015120.4:c.11520G>A NM_015120.4:c.11520G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	1.92	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs34617744	NM_015120.4:c.10206T>A NM_015120.4:c.10206T>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.79	2.95	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs77517267	NM_015120.4:c.2532C>T NM_015120.4:c.2532C>T(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.00	3.65	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs112034360	NM_015120.4:c.3891A>G NM_015120.4:c.3891A>G(p.=)	5	0	0	5	3.52	5.57	4.21	B	Síndrome de Alstrom	
ALMS1	synonymous variant	rs11884776	NM_015120.4:c.9558C>T NM_015120.4:c.9558C>T(p.=)	27	0	3	24	21.13	21.37	25.68	B	-	
ALMS1	synonymous variant	rs6546836	NM_015120.4:c.4176A>G NM_015120.4:c.4176A>G(p.=)	28	0	6	22	23.94	22.56	33.83	B	-	
ALMS1	synonymous variant	rs1052162	NM_015120.4:c.12172C>T NM_015120.4:c.12172C>T(p.=)	32	0	3	29	24.65	22.76	34.17	B	-	
ALMS1	synonymous variant	rs7598901	NM_015120.4:c.2187C>T NM_015120.4:c.2187C>T(p.=)	55	0	20	35	52.82	64.91	52.63	NR	-	
BBS1	missense variant	rs35520756	NM_024649.4:c.700G>A NP_078925.3:p.Glu234Lys	1	0	0	1	0.70	0.00	2.83	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
BBS1	splice region variant,intron variant	rs10896125	NM_024649.4:c.724-8G>C	22	0	1	21	16.20	23.96	24.26	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS1	3 prime UTR variant	rs8432	NM_024649.4:c.*7A>G	45	0	14	31	41.55	61.33	61.28	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS1,	missense variant	rs77298332	NM_024649.4:c.1349G>A NP_078925.3:p.Arg450Gln	1	0	0	1	0.70	0.00	2.4	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
BBS1	splice region variant, intron variant	rs56177555	NM_024649.4:c.831-5C>T	1	0	0	1	0.70	0.00	0.24	B	-	
BBS1	synonymous variant	-	NM_024649.4:c.1437C>T NM_024649.4:c.1437C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS1	synonymous variant	rs147783319	NM_024649.4:c.1773G>A NM_024649.4:c.1773G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS1	synonymous variant	rs373397428	NM_024649.4:c.1578G>A NM_024649.4:c.1578G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS1	synonymous variant	rs3816492	NM_024649.4:c.1413C>T NM_024649.4:c.1413C>T(p.=)	22	0	1	21	16.20	23.96	14.34	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS2	frameshift variant	rs773417074	NM_031885.3:c.627_628delTT NP_114091.3:p.Cys210SerfsTer20	1	0	0	1	0.70	-	-	PP	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS2	missense variant	rs562585023	NM_031885.3:c.85C>T NP_114091.3:p.Pro29Ser	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	Possiv. danosa
BBS2	missense variant	rs16957538	NM_031885.3:c.1511C>T NP_114091.3:p.Ala504Val	1	0	0	1	0.70	0.00	2.08	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS2	missense variant	rs11373	NM_031885.3:c.367A>G NP_114091.3:p.Ile123Val	25	0	1	24	18.31	17.89	26.36	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS2	missense variant	rs4784677	NM_031885.3:c.209G>A NP_114091.3:p.Ser70Asn	61	0	61	0	85.92	99.10	99.64	P	Alelo G - Síndrome de Bardet-Biedl 2/6, digénico Alelo A - Benigno	Benigna
BBS2	splice region variant, intron variant	rs6499838	NM_031885.3:c.1659+3A>G	1	0	0	1	0.70	0.00	3.83	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS2	synonymous variant	rs117033008	NM_031885.3:c.1422G>A NM_031885.3:c.1422G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.06	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS2	synonymous variant	rs35294865	NM_031885.3:c.1413A>C NM_031885.3:c.1413A>C(p.=)	2	0	0	2	1.41	1.69	0.46	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS3/A RL6	splice region variant, intron variant	rs375454860	NM_032146.4:c.350-7C>T	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS3/A RL6	splice region variant, intron variant	rs77010939	NM_032146.4:c.480-8C>T	1	0	0	1	0.70	0.00	1.38	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
BBS4	missense variant	rs147202164	NM_033028.4:c.1236A>T NP_149017.2:p.Glu412Asp	1	0	0	1	0.70	0.10	0.22	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS4	missense variant	rs75295839	NM_033028.4:c.137A>G NP_149017.2:p.Lys46Arg	1	0	0	1	0.70	1.09	0.32	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS4	missense variant	rs2277598	NM_033028.4:c.1061T>C NP_149017.2:p.Ile354Thr	55	0	33	22	61.97	65.61	42.89	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS4	splice region variant, intron variant	rs8033604	NM_033028.4:c.77-6G>A	61	0	60	1	85.21	100.0	94.21	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS4	synonymous variant	rs114434361	NM_033028.4:c.180A>G NM_033028.4:c.180A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.84	PB	-	
BBS4	synonymous variant	rs12914333	NM_033028.4:c.906T>C NM_033028.4:c.906T>C(p.=)	59	0	58	1	82.39	100.0	96.04	B	Alelo T - Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS5	missense variant	rs137853921	NM_152384.2:c.551A>G NP_689597.1:p.Asn184Ser	2	0	0	2	1.41	0.69	0.22	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
BBS5	synonymous variant	rs16823066	NM_152384.2:c.108C>T NM_152384.2:c.108C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	2.95	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS5	synonymous variant	rs10188609	NM_152384.2:c.39C>G NM_152384.2:c.39C>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	4.65	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS6/M KKS	missense variant	rs141201812	NM_170784.2:c.697A>C NP_740754.1:p.Ile233Leu	1	0	0	1	0.70	0.20	0.04		Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS6/M KKS	missense variant	rs74315394	NM_170784.2:c.724G>T NP_740754.1:p.Ala242Ser	1	0	0	1	0.70	0.69	0.18	B/P	Síndrome de Bardet-Biedl e Síndrome de Mckusick Kaufman	Prov. danosa
BBS6/M KKS	missense variant	rs61734546	NM_170784.2:c.1462G>A NP_740754.1:p.Ala488Thr	1	0	0	1	0.70	0.00	1.08	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS6/M KKS	missense variant	rs1545	NM_170784.2:c.1595G>T NP_740754.1:p.Gly532Val	16	0	1	15	11.97	8.75	19.27	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS6/M KKS	missense variant	rs1547	NM_170784.2:c.1549C>T NP_740754.1:p.Arg517Cys	17	0	2	15	13.38	8.75	19.51	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS6/M KKS	synonymous variant	rs17852625	NM_170784.2:c.534C>T NM_170784.2:c.534C>T(p.=)	18	0	2	16	14.08	8.75	19.15	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS6/M KKS	synonymous variant	rs16991547	NM_170784.2:c.117C>T NM_170784.2:c.117C>T(p.=)	5	0	3	2	5.63	8.94	23.84	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS7	intron variant	rs374523374	NM_176824.2:c.718+9T>C	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq Gl. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
BBS7	missense variant	rs766450289	NM_176824.2:c.76G>A NP_789794.1:p.Ala26Thr	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
BBS7	splice region variant, intron variant	rs758828904	NM_176824.2:c.529-7_529-5delCCT	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS8/TC8	missense variant	rs150880478	NM_144596.2:c.284A>G NP_653197.2:p.Lys95Arg	1	0	0	1	0.70	0.79	0.72	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
BBS8/TC8	splice region variant, intron variant	rs137853922	NM_144596.2:c.625-5C>T	1	0	0	1	0.70	0.99	0.38	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS8/TC8	stop gained	rs948160026	NM_144596.2:c.677G>A NP_653197.2:p.Trp226Ter	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS9	missense variant	rs138072724	NM_198428.2:c.1280C>T NP_940820.1:p.Ala427Val	1	0	0	1	0.70	1.19	0.28	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
BBS9	missense variant	rs34218557	NM_198428.2:c.1562G>A NP_940820.1:p.Arg521Gln	1	0	0	1	0.70	0.00	0.86	IPC	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
BBS9	missense variant	rs34209904	NM_198428.2:c.1849A>C NP_940820.1:p.Ile617Leu	2	0	0	2	1.41	0.00	1.72	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS9	missense variant	rs11773504	NM_198428.2:c.1363G>A NP_940820.1:p.Ala455Thr	26	0	5	21	21.83	19.58	17.13	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS9	splice region variant, intron variant	rs28622379	NM_198428.2:c.1694-6T>C	1	0	0	1	0.70	0.10	1.68	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS9	splice region variant, intron variant	rs61756571	NM_198428.2:c.1017-6T>C	4	0	0	4	2.82	6.46	1.9	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS9	synonymous variant	rs78283245	NM_198428.2:c.390T>C NM_198428.2:c.390T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.4	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS9	synonymous variant	rs115809567	NM_198428.2:c.2220G>A NM_198428.2:c.2220G>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.00	0.82	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS9	synonymous variant	rs35195153	NM_198428.2:c.1029A>G NM_198428.2:c.1029A>G(p.=)	3	0	0	3	2.11	0.00	4.93	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS9	synonymous variant	rs6964382	NM_198428.2:c.1284C>T NM_198428.2:c.1284C>T(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.00	4.97	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS10	missense variant	rs142863601	NM_024685.3:c.424G>A NP_078961.3:p.Asp142Asn	1	0	0	1	0.70	1.09	0.28	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq Gl. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
BBS10	missense variant	rs34737974	NM_024685.3:c.1631A>G NP_078961.3:p.Asn544Ser	3	0	0	3	2.11	0.99	0.66	B	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS10	missense variant	rs35676114	NM_024685.3:c.1616C>T NP_078961.3:p.Pro539Leu	10	0	0	10	7.04	7.45	3.35	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS10	synonymous variant	rs887761680	NM_024685.3:c.163C>T NM_024685.3:c.163C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS11, TRIM32	missense variant	rs758882829	NM_012210.3:c.302G>A NP_036342.2:p.Arg101Gln	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
BBS11, TRIM32	synonymous variant	rs1661300	NM_012210.3:c.1254G>A NM_012210.3:c.1254G>A(p.=)	11	0	1	10	8.45	11.53	10.36	PB	Syndrom de Bardet-Biedl	
BBS12	missense variant	rs138036823	NM_152618.2:c.116T>C NP_689831.2:p.Ile39Thr	2	0	0	2	1.41	0.50	0.22	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	Prov. danosa
BBS12	missense variant	rs77731085	NM_152618.2:c.355G>A NP_689831.2:p.Gly119Ser	1	0	0	1	0.70	0.00	0.44	B	Syndrom de Bardet-Biedl	Prov. danosa
BBS12	missense variant	rs10027479	NM_152618.2:c.1381A>C NP_689831.2:p.Asn461His	2	0	0	2	1.41	0.00	2.36	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS12	missense variant	rs28507107	NM_152618.2:c.1847G>A NP_689831.2:p.Ser616Asn	2	0	0	2	1.41	0.10	2.62	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS12	missense variant	rs7665271	NM_152618.2:c.1286G>C NP_689831.2:p.Ser429Thr	1	0	0	1	0.70	0.20	3.71	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS12	missense variant	rs13135778	NM_152618.2:c.1399G>A NP_689831.2:p.Asp467Asn	1	0	0	1	0.70	21.27	9.26	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS12	missense variant	rs309370	NM_152618.2:c.1157G>A NP_689831.2:p.Arg386Gln	42	0	11	31	37.32	31.91	50.64	B	Syndrom de Bardet-Biedl	Benigna
BBS12	synonymous variant	rs34296401	NM_152618.2:c.1062G>C NM_152618.2:c.1062G>C(p.=)	3	0	0	3	2.11	2.19	2.89	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	
BBS12	synonymous variant	rs17006092	NM_152618.2:c.1209G>A NM_152618.2:c.1209G>A(p.=)	3	0	0	3	2.11	2.19	3.45	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	
BBS12	synonymous variant	rs17006077	NM_152618.2:c.51A>G NM_152618.2:c.51A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.20	6.83	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	
BBS12	synonymous variant	rs13102440	NM_152618.2:c.1872A>G NM_152618.2:c.1872A>G(p.=)	28	0	3	25	21.83	21.27	9.18	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	
BBS12	synonymous variant	rs309371	NM_152618.2:c.1200G>A NM_152618.2:c.1200G>A(p.=)	7	0	0	7	4.93	2.48	9.26	B	Syndrom de Bardet-Biedl	
BBS12	synonymous variant	rs13135766	NM_152618.2:c.1380G>C NM_152618.2:c.1380G>C(p.=)	28	0	3	25	21.83	21.77	9.46	B/PB	Syndrom de Bardet-Biedl	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
BBS12	synonymous variant	rs13135445	NM_152618.2:c.1410C>T NM_152618.2:c.1410C>T(p.=)	25	0	3	22	19.72	23.46	12.1	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS12	synonymous variant	rs2292493	NM_152618.2:c.1398C>T NM_152618.2:c.1398C>T(p.=)	11	0	4	7	10.56	8.25	30.05	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS13/ MKS1	intron variant	rs3826300	NM_017777.3:c.858+9A>G	33	0	4	29	26.06	44.03	48.08	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS13/ MKS1	missense variant	rs142813109	NM_017777.3:c.213C>G NP_060247.2:p.Asp71Glu	1	0	0	1	0.70	0.60	0.16	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS14/ CEP290	inframe deletion	rs760503950	NM_025114.3:c.3162_3167del CATTTC NP_079390.3:p.Ile1055_Ser1056del	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
BBS14/ CEP290	intron variant	rs190383141	NM_025114.3:c.251-10A>T	4	0	0	4	2.82	0.10	1.86	B	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS14/ CEP290	missense variant	rs1222421581	NM_025114.3:c.376C>A NP_079390.3:p.Gln126Lys	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs1274778299	NM_025114.3:c.6299G>A NP_079390.3:p.Cys2100Tyr	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs1420933299	NM_025114.3:c.3644C>T NP_079390.3:p.Ala1215Val	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
BBS14/ CEP290	missense variant	rs188164241	NM_025114.3:c.1079G>A NP_079390.3:p.Arg360Gln	2	0	0	2	1.41	0.50	0.12	PB	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	Prov. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs11104729	NM_025114.3:c.5506A>G NP_079390.3:p.Ile1836Val	1	0	0	1	0.70	0.10	0.52	VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS14/ CEP290	missense variant	rs117852025	NM_025114.3:c.6401T>C NP_079390.3:p.Ile2134Thr	1	0	0	1	0.70	0.89	0.58	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Prov. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs45502896	NM_025114.3:c.829G>C NP_079390.3:p.Glu277Gln	5	0	0	5	3.52	2.58	1.54	PB	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	Prov. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs79705698	NM_025114.3:c.1991A>G NP_079390.3:p.Asp664Gly	1	0	0	1	0.70	1.29	4.45	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS14/ CEP290	missense variant	rs7970228	NM_025114.3:c.2717T>G NP_079390.3:p.Leu906Trp	3	0	0	3	2.11	0.10	4.95	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs7307793	NM_025114.3:c.3710G>A NP_079390.3:p.Arg1237His	1	0	0	1	0.70	0.00	5.11	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Possiv. danosa
BBS14/ CEP290	missense variant	rs11104738	NM_025114.3:c.2512A>G NP_079390.3:p.Lys838Glu	4	0	0	4	2.82	4.87	9.7	B	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
BBS14/ CEP290	missense variant,splice region variant	rs200587974	NM_025114.3:c.671C>T NP_079390.3:p.Thr224Ile	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
BBS14/ CEP290	missense variant,splice region variant	rs554863859	NM_025114.3:c.4813G>T NP_079390.3:p.Asp1605Tyr	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
BBS14/ CEP290	splice region variant,synonymous variant	rs45465996	NM_025114.3:c.2055T>C NM_025114.3:c.2055T>C(p.=)	18	0	3	15	14.79	20.08	6.89	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS14/ CEP290	synonymous variant	rs117370446	NM_025114.3:c.5322C>T NM_025114.3:c.5322C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.69	0.26	VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS14/ CEP290	synonymous variant	rs117122459	NM_025114.3:c.4119A>G NM_025114.3:c.4119A>G(p.=)	2	0	0	2	1.41	3.38	2.28	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS15/ WDPCP	missense variant	rs61734466	NM_015910.5:c.1333G>C NP_056994.3:p.Ala445Pro	1	0	0	1	0.70	0.99	0.22	VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS15/ WDPCP	missense variant	rs61734468	NM_015910.5:c.2063A>G NP_056994.3:p.Asn688Ser	2	0	0	2	1.41	0.69	0.3	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS15/ WDPCP	missense variant	rs17617459	NM_015910.5:c.802G>A NP_056994.3:p.Gly268Ser	1	0	0	1	0.70	5.57	1.72	B/PB	Síndrome de Bardet-Biedl	Benigna
BBS15/ WDPCP	splice region variant,intron variant	rs2421862	NM_015910.5:c.1916-6C>T	25	0	3	22	19.72	20.67	10.38	PB	Síndrome de Bardet-Biedl	
BBS17/L ZTFL1	missense variant	rs9917821	NM_020347.3:c.376A>C NP_065080.1:p.Asn126His	1	0	0	1	0.70	0.00	1.98	NR	-	Benigna
BBS17/L ZTFL1	missense variant	rs1129183	NM_020347.3:c.736G>A NP_065080.1:p.Asp246Asn	8	0	0	8	5.63	7.35	5.41	NR	-	Possiv. danosa
BDNF	missense variant	rs745707481	NM_170735.5:c.272C>T NP_733931.1:p.Thr91Met	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
BDNF	missense variant	rs6265	NM_170735.5:c.196G>A NP_733931.1:p.Val66Met	10	0	0	10	7.04	19.68	20.13	RF	Susceptibilidade para comportamentos obsessivo compulsivos, bulimia e anorexia	Possiv. danosa
CCDC2 8B	splice region variant,synonymous variant	rs41263993	NM_024296.3:c.330C>T NM_024296.3:c.330C>T(p.=)	2	0	0	2	1.41	1.39	0.56	RF/VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	
CPE	missense variant	rs116683740	NM_001873.2:c.887A>G NP_001864.1:p.Asn296Ser	2	0	0	2	1.41	0.00	0.34	NR	-	Possiv. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
CPE	synonymous variant	rs201133905	NM_001873.2:c.945C>T NM_001873.2:c.945C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.08	NR	-	
CPE	synonymous variant	rs112824368	NM_001873.2:c.1422A>G NM_001873.2:c.1422A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.48	NR	-	
CPE	synonymous variant	rs4690821	NM_001873.2:c.801C>T NM_001873.2:c.801C>T(p.=)	8	0	0	8	5.63	6.36	5.99	NR	-	
FTO	missense variant	rs144743617	NM_001080432.2:c.767G>A NP_001073901.1:p.Ser256Asn	1	0	0	1	0.70	0.40	0.16	NR	-	Possiv. danosa
FTO	synonymous variant	rs148109727	NM_001080432.2:c.1002T>C NM_001080432.2:c.1002T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.68	NR	-	
G6PC	intron variant	rs368450665	NM_000151.3:c.340+10C>A	1	0	0	1	0.70	-	-	VUS	Doença de armazenamento de glicogénio, tipo 1	
G6PC	missense variant	rs149486847	NM_000151.3:c.992C>T NP_000142.2:p.Ala331Val	1	0	0	1	0.70	0.00	0.12	NR	-	Possiv. danosa
GNAS	synonymous variant	rs8386	NM_080425.2:c.3042C>T NM_080425.2:c.3042C>T(p.=)	3	0	0	3	2.11	1.19	5.09	NR	-	
GNAS	synonymous variant	rs8620	NM_080425.2:c.2484C>T NM_080425.2:c.2484C>T(p.=)	5	0	0	5	3.52	1.19	7.51	NR	-	
GNAS	synonymous variant	rs7121	NM_080425.2:c.2322C>T NM_080425.2:c.2322C>T(p.=)	51	0	21	30	50.70	47.41	64.44	B	-	
IGF2	missense variant	rs150866176	NM_001127598.1:c.607G>C NP_001121070.1:p.Glu203Gln	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	Prov. danosa
IGF2	synonymous variant	rs199968864	NM_001127598.1:c.333C>T NM_001127598.1:c.333C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	
IGF2	synonymous variant	rs1803647	NM_001127598.1:c.402C>G NM_001127598.1:c.402C>G(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.10	0.64	NR	-	
IGF2R	intron variant	rs2282137	NM_000876.2:c.2052-11G>A	3	0	0	3	2.11	1.09	5.97	NR	-	
IGF2R	missense variant	rs146110381	NM_000876.2:c.4094A>G NP_000867.2:p.Asp1365Gly	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
IGF2R	missense variant	rs372323465	NM_000876.2:c.228G>T NP_000867.2:p.Gln76His	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
IGF2R	missense variant	rs141420320	NM_000876.2:c.2414C>T NP_000867.2:p.Thr805Met	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	Possiv. danosa
IGF2R	missense variant	rs148608443	NM_000876.2:c.1063G>A NP_000867.2:p.Asp355Asn	1	0	0	1	0.70	0.10	0.02	NR	-	Possiv. danosa
IGF2R	missense variant	rs139109340	NM_000876.2:c.6857G>A NP_000867.2:p.Ser2286Asn	1	0	0	1	0.70	0.00	0.04	NR	-	Benigna
IGF2R	missense variant	rs77999960	NM_000876.2:c.4511C>T NP_000867.2:p.Thr1504Ile	1	0	0	1	0.70	0.20	0.12	NR	-	Benigna
IGF2R	missense variant	rs76130099	NM_000876.2:c.5701G>A NP_000867.2:p.Val1901Ile	3	0	0	3	2.11	0.60	0.42	NR	-	Benigna
IGF2R	missense variant	rs8191808	NM_000876.2:c.2449C>G NP_000867.2:p.Leu817Val	1	0	0	1	0.70	0.99	0.72	NR	-	Prov. danosa
IGF2R	missense variant	rs150809922	NM_000876.2:c.745C>T NP_000867.2:p.Arg249Trp	1	0	0	1	0.70	0.00	0.76	NR	-	Possiv. danosa
IGF2R	missense variant	rs8191842	NM_000876.2:c.3320C>T NP_000867.2:p.Thr1107Met	1	0	0	1	0.70	0.10	2.08	NR	-	Prov. danosa
IGF2R	missense variant	rs1805075	NM_000876.2:c.6059A>G NP_000867.2:p.Asn2020Ser	2	0	0	2	1.41	4.07	12.26	NR	-	Benigna
IGF2R	missense variant	rs8191754	NM_000876.2:c.754C>G NP_000867.2:p.Leu252Val	17	0	0	17	11.97	14.81	16.03	NR	-	Possiv. danosa
IGF2R	missense variant	rs629849	NM_000876.2:c.4855A>G NP_000867.2:p.Arg1619Gly	59	0	51	8	77.46	86.38	90.32	NR	-	Benigna
IGF2R	splice region variant,intron variant	rs750333814	NM_000876.2:c.6655+8G>A	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
IGF2R	splice region variant,intron variant	rs2297367	NM_000876.2:c.6995+6C>T	13	0	2	11	10.56	4.87	7.09	NR	-	
IGF2R	splice region variant,intron variant	rs2297370	NM_000876.2:c.6996-5T>A	18	0	2	16	14.08	19.18	22.24	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs775387243	NM_000876.2:c.5256G>A NM_000876.2:c.5256G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs140441367	NM_000876.2:c.2547C>T NM_000876.2:c.2547C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.02	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs8191810	NM_000876.2:c.2484G>A NM_000876.2:c.2484G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.14	NR	-	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
IGF2R	synonymous variant	rs8191820	NM_000876.2:c.2586C>T NM_000876.2:c.2586C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.14	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs2230044	NM_000876.2:c.4608G>A NM_000876.2:c.4608G>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	1.09	5.95	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs1803989	NM_000876.2:c.6666C>T NM_000876.2:c.6666C>T(p.=)	3	0	1	2	2.82	5.47	22.94	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs894817	NM_000876.2:c.1590G>A NM_000876.2:c.1590G>A(p.=)	39	0	8	31	33.10	31.81	42.37	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs1570070	NM_000876.2:c.1050A>G NM_000876.2:c.1050A>G(p.=)	40	0	7	33	33.10	34.89	42.39	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs998075	NM_000876.2:c.2139A>G NM_000876.2:c.2139A>G(p.=)	47	0	20	27	47.18	48.41	42.25	NR	-	
IGF2R	synonymous variant	rs614754	NM_000876.2:c.6051C>G NM_000876.2:c.6051C>G(p.=)	16	0	15	1	21.83	98.41	99.60	NR	-	
IRS1	missense variant	rs770740222	NM_005544.2:c.1283C>T NP_005535.1:p.Ser428Leu	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
IRS1	missense variant	rs1801276	NM_005544.2:c.1534G>C NP_005535.1:p.Ala512Pro	2	0	0	2	1.41	2.19	0.64	B	Diabetes mellitus tipo 2	Benigna
IRS1	missense variant	rs1801278	NM_005544.2:c.2911G>A NP_005535.1:p.Gly971Arg	12	0	1	11	9.15	8.55	5.31	RF	Resistência à insulina e doença arterial coronária	Possiv. danosa
IRS1	synonymous variant	rs34909077	NM_005544.2:c.2004C>T NM_005544.2:c.2004C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.54	NR	-	
IRS1	synonymous variant	rs35909627	NM_005544.2:c.2679G>C NM_005544.2:c.2679G>C(p.=)	3	0	0	3	2.11	1.59	0.72	NR	-	
IRS1	synonymous variant	rs2234931	NM_005544.2:c.702G>A NM_005544.2:c.702G>A(p.=)	15	0	1	14	11.27	8.55	5.29	NR	-	
IRS1	synonymous variant	rs3731597	NM_005544.2:c.270C>T NM_005544.2:c.270C>T(p.=)	4	0	0	4	2.82	1.39	8.87	NR	-	
IRS1	synonymous variant	rs1801123	NM_005544.2:c.2412A>G NM_005544.2:c.2412A>G(p.=)	14	0	2	12	11.27	8.35	27.99	NR	-	
IRS2	missense variant	rs1404845976	NM_003749.2:c.3556A>G NP_003740.2:p.Ser1186Gly	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
IRS2	missense variant	rs758946525	NM_003749.2:c.571A>G NP_003740.2:p.Thr191Ala	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
IRS2	missense variant	rs35927012	NM_003749.2:c.2995G>A NP_003740.2:p.Val999Met	1	0	0	1	0.70	0.20	1.82	NR	-	Prov. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
IRS2	missense variant	rs1805097	NM_003749.2:c.3170G>A NP_003740.2:p.Gly1057Asp	22	0	2	20	16.90	31.61	28.33	RF	Diabetes mellitus tipo 2	Benigna
IRS2	synonymous variant	rs774725019	NM_003749.2:c.3144G>A NM_003749.2:c.3144G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
IRS2	synonymous variant	rs75172981	NM_003749.2:c.2673G>C NM_003749.2:c.2673G>C(p.=)	4	0	0	4	2.82	2.78	2.69	NR	-	
IRS2	synonymous variant	rs12853546	NM_003749.2:c.2487C>T NM_003749.2:c.2487C>T(p.=)	20	0	1	19	14.79	25.65	22.5	NR	-	
IRS2	synonymous variant	rs9583424	NM_003749.2:c.3099A>G NM_003749.2:c.3099A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	27.24	27.54	NR	-	
IRS2	synonymous variant	rs3742210	NM_003749.2:c.2169C>T NM_003749.2:c.2169C>T(p.=)	29	0	6	23	24.65	58.75	55.95	NR	-	
IRS2	synonymous variant	rs4773092	NM_003749.2:c.2448T>C NM_003749.2:c.2448T>C(p.=)	14	0	3	11	11.97	59.04	43.61	NR	-	
IRS4	missense variant	rs375938401	NM_003604.2:c.1232_1233delinsAT NP_003595.1:p.Arg411His	6	2	0	4	4.23	-	-	NR	-	Possiv. danosa
IRS4	missense variant	rs28546943	NM_003604.2:c.3688G>T NP_003595.1:p.Asp1230Tyr	1	0	0	1	0.70	0.00	2.62	NR	-	Possiv. danosa
IRS4	missense variant	rs41307415	NM_003604.2:c.1232G>A NP_003595.1:p.Arg411Gln	1	1	0	0	4.93	5.22	4.53	NR	-	Benigna
IRS4	missense variant	rs1801162	NM_003604.2:c.100C>T NP_003595.1:p.Leu34Phe	8	3	0	5	5.63	5.35	4.9	NR	-	Benigna
IRS4	missense variant	rs34287560	NM_003604.2:c.1524T>A NP_003595.1:p.Asn508Lys	1	1	0	0	0.70	0.26	6.12	NR	-	Benigna
IRS4	missense variant	rs1801164	NM_003604.2:c.2635C>G NP_003595.1:p.His879Asp	24	5	2	17	18.31	22.71	53.59	NR	-	Benigna
IRS4	synonymous variant	rs756750215	NM_003604.2:c.765G>T NM_003604.2:c.765G>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
IRS4	synonymous variant	rs28473027	NM_003604.2:c.3769C>A NM_003604.2:c.3769C>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	2.6	NR	-	
IRS4	synonymous variant	rs73253702	NM_003604.2:c.138C>T NM_003604.2:c.138C>T(p.=)	8	3	0	5	5.63	5.35	4.98	NR	-	
IRS4	synonymous variant	rs2073115	NM_003604.2:c.60G>A NM_003604.2:c.60G>A(p.=)	13	0	2	11	10.56	17.23	42.65	NR	-	
IRS4	synonymous variant	rs2073114	NM_003604.2:c.63G>A NM_003604.2:c.63G>A(p.=)	22	3	2	17	16.90	22.85	54.25	NR	-	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
LEP	missense variant	rs17151919	NM_000230.2:c.280G>A NP_000221.1:p.Val94Met	2	0	0	2	1.41	0.00	2.76	PB/B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência ou disfunção da leptina/Diabetes monogénica	Possiv. danosa
LEP	synonymous variant	rs201523305	NM_000230.2:c.21C>T NM_000230.2:c.21C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	VUS	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência ou disfunção da leptina	
LEPR	missense variant	rs34499590	NM_002303.5:c.2096C>T NP_002294.2:p.Thr699Met	1	0	0	1	0.70	0.00	0.98	B	Diabetes monogénica	Prov. danosa
LEPR	missense variant	rs1805094	NM_002303.5:c.1968G>C NP_002294.2:p.Lys656Asn	23	0	1	22	16.90	15.11	14.24	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	Possiv. danosa
LEPR	missense variant	rs1137100	NM_002303.5:c.326A>G NP_002294.2:p.Lys109Arg	2	0	0	2	1.41	27.04	32.03	B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	Benigna
LEPR	missense variant	rs1137101	NM_002303.5:c.668A>G NP_002294.2:p.Gln223Arg	45	0	17	28	43.66	46.92	58.43	B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	Benigna
LEPR	synonymous variant	rs1805134	NM_002303.5:c.1029T>C NM_002303.5:c.1029T>C(p.=)	21	0	2	19	16.20	22.27	25.4	B	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	
LEPR	synonymous variant	rs1805096	NM_002303.5:c.3057G>A NM_002303.5:c.3057G>A(p.=)	47	0	7	40	38.03	37.97	52.97	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência no recetor da leptina	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
LRP2	missense variant	rs1014040945	NM_004525.2:c.12385A>G NP_004516.2:p.Asn4129Asp	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs371867711	NM_004525.2:c.13156G>A NP_004516.2:p.Gly4386Arg	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Possiv. danosa
LRP2	missense variant	rs147058423	NM_004525.2:c.3110G>A NP_004516.2:p.Arg1037Lys	2	0	0	2	1.41	0.10	0.02	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna
LRP2	missense variant	rs138269726	NM_004525.2:c.6160G>A NP_004516.2:p.Asp2054Asn	1	0	0	1	0.70	0.20	0.04	P	Síndrome de Donnai Barrow	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs189273089	NM_004525.2:c.9592G>A NP_004516.2:p.Glu3198Lys	2	0	0	2	1.41	0.00	0.04	NR	-	Possiv. danosa
LRP2	missense variant	rs142594441	NM_004525.2:c.403G>A NP_004516.2:p.Asp135Asn	1	0	0	1	0.70	0.10	0.1	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs35734447	NM_004525.2:c.9613A>G NP_004516.2:p.Asn3205Asp	2	0	0	2	1.41	0.60	0.18	NR	-	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs140061784	NM_004525.2:c.3434C>T NP_004516.2:p.Ser1145Leu	1	0	0	1	0.70	0.10	0.28	NR	-	Benigna
LRP2	missense variant	rs35086590	NM_004525.2:c.9413G>A NP_004516.2:p.Arg3138His	1	0	0	1	0.70	0.10	0.34	NR	-	Benigna
LRP2	missense variant	rs34355135	NM_004525.2:c.11092G>A NP_004516.2:p.Val3698Met	1	0	0	1	0.70	0.60	0.38	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	Possiv. danosa
LRP2	missense variant	rs79723119	NM_004525.2:c.11996T>G NP_004516.2:p.Val3999Gly	4	0	0	4	2.82	1.79	0.42	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna
LRP2	missense variant	rs41268685	NM_004525.2:c.13250G>A NP_004516.2:p.Gly4417Asp	4	0	0	4	2.82	1.19	0.58	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs144081819	NM_004525.2:c.10804G>A NP_004516.2:p.Ala3602Thr	1	0	0	1	0.70	0.10	0.88	PB	-	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs34291900	NM_004525.2:c.2006G>A NP_004516.2:p.Gly669Asp	1	0	0	1	0.70	3.68	1.5	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs150552608	NM_004525.2:c.3452C>T NP_004516.2:p.Pro1151Leu	3	0	0	3	2.11	0.20	1.52	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna
LRP2	missense variant	rs17848169	NM_004525.2:c.7894A>G NP_004516.2:p.Asn2632Asp	2	0	0	2	1.41	3.97	1.72	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Possiv. danosa
LRP2	missense variant	rs34693334	NM_004525.2:c.775G>C NP_004516.2:p.Gly259Arg	6	0	0	6	4.23	8.05	4.03	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna
LRP2	missense variant	rs17848149	NM_004525.2:c.3836A>C NP_004516.2:p.Asp1279Ala	1	0	1	0	1.41	2.88	4.23	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
LRP2	missense variant	rs2228171	NM_004525.2:c.8614G>A NP_004516.2:p.Ala2872Thr	27	0	3	24	21.13	25.94	26.8	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna
LRP2	missense variant	rs2229263	NM_004525.2:c.248A>G NP_004516.2:p.Asn83Ser	29	0	7	22	25.35	27.83	30.63	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Benigna
LRP2	missense variant	rs4667591	NM_004525.2:c.12628A>C NP_004516.2:p.Ile4210Leu	54	0	35	19	62.68	79.32	55.59	PB	Síndrome de Donnai Barrow	Prov. danosa
LRP2	missense variant	rs2075252	NM_004525.2:c.12280A>G NP_004516.2:p.Lys4094Glu	56	0	32	24	61.97	76.24	77.80	PB	-	Benigna
LRP2	splice region variant,intron variant	rs115371758	NM_004525.2:c.1172-8G>A	1	0	0	1	0.70	1.99	0.56	PB	-	
LRP2	splice region variant,intron variant	rs144147038	NM_004525.2:c.923-6G>A	1	0	0	1	0.70	0.99	1.18	VUS /PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	splice region variant,intron variant	rs76488092	NM_004525.2:c.11759-5T>G	2	0	0	2	1.41	0.00	1.68	B	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	splice region variant,intron variant	rs17848192	NM_004525.2:c.12151+4T>C	1	0	0	1	0.70	0.10	3.05	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	splice region variant,intron variant	rs76714416	NM_004525.2:c.4046-6T>C	4	0	0	4	2.82	0.40	5.31	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	splice region variant,synonymous variant	rs2302694	NM_004525.2:c.5100C>T NM_004525.2:c.5100C>T(p.=)	14	0	3	11	11.97	10.93	18.37	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs375394006	NM_004525.2:c.909C>T NM_004525.2:c.909C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
LRP2	synonymous variant	rs148473513	NM_004525.2:c.8112C>A NM_004525.2:c.8112C>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.02	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs183867145	NM_004525.2:c.894A>G NM_004525.2:c.894A>G(p.=)	1	0	1	0	1.41	0.00	0.02	NR	-	
LRP2	synonymous variant	rs149367019	NM_004525.2:c.6967C>T NM_004525.2:c.6967C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.50	0.12	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs149148763	NM_004525.2:c.8892G>A NM_004525.2:c.8892G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.60	0.18	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs141180155	NM_004525.2:c.2175C>T NM_004525.2:c.2175C>T(p.=)	2	0	0	2	1.41	1.19	0.34	PB	-	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
LRP2	synonymous variant	rs145384264	NM_004525.2:c.5085G>A NM_004525.2:c.5085G>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	1.59	0.62	VUS	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs34834388	NM_004525.2:c.6045C>T NM_004525.2:c.6045C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	2.14	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs35297090	NM_004525.2:c.4344C>G NM_004525.2:c.4344C>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	2.16	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs16856476	NM_004525.2:c.13155C>T NM_004525.2:c.13155C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	3.89	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs34104660	NM_004525.2:c.402C>A NM_004525.2:c.402C>A(p.=)	13	0	1	12	9.86	8.15	4.75	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs34915742	NM_004525.2:c.4236G>C NM_004525.2:c.4236G>C(p.=)	4	0	0	4	2.82	0.40	5.31	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs35114151	NM_004525.2:c.6759T>C NM_004525.2:c.6759T>C(p.=)	2	0	1	1	2.11	3.08	6.05	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs33954745	NM_004525.2:c.2376T>C NM_004525.2:c.2376T>C(p.=)	12	0	2	10	9.86	8.45	7.63	B/PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs13397109	NM_004525.2:c.7626C>G NM_004525.2:c.7626C>G(p.=)	6	0	0	6	4.23	5.47	13.64	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs11886219	NM_004525.2:c.5859A>G NM_004525.2:c.5859A>G(p.=)	9	0	1	8	7.04	5.27	16.09	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs2229268	NM_004525.2:c.11601T>C NM_004525.2:c.11601T>C(p.=)	29	0	0	29	20.42	22.96	19.07	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs2229266	NM_004525.2:c.639C>T NM_004525.2:c.639C>T(p.=)	30	0	4	26	23.94	23.86	37.02	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs2229265	NM_004525.2:c.10503G>A NM_004525.2:c.10503G>A(p.=)	50	0	12	38	43.66	49.60	37.96	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs2075249	NM_004525.2:c.3054C>A NM_004525.2:c.3054C>A(p.=)	35	0	11	24	32.39	46.32	45.65	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs2229267	NM_004525.2:c.4875T>C NM_004525.2:c.4875T>C(p.=)	35	0	8	27	30.28	26.34	46.13	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs990626	NM_004525.2:c.13113C>T NM_004525.2:c.13113C>T(p.=)	48	0	25	23	51.41	72.66	55.95	PB	Síndrome de Donnai Barrow	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
LRP2	synonymous variant	rs831042	NM_004525.2:c.3660A>G NM_004525.2:c.3660A>G(p.=)	45	0	14	31	41.55	46.12	58.19	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs830994	NM_004525.2:c.2025C>T NM_004525.2:c.2025C>T(p.=)	53	0	30	23	58.45	66.10	60.96	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs831043	NM_004525.2:c.3069A>G NM_004525.2:c.3069A>G(p.=)	43	0	12	31	38.73	46.22	61.86	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs2241190	NM_004525.2:c.2460A>G NM_004525.2:c.2460A>G(p.=)	43	0	15	28	40.85	47.91	62.24	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
LRP2	synonymous variant	rs1559014	NM_004525.2:c.63G>C NM_004525.2:c.63G>C(p.=)	33	0	33	0	46.48	100.0	98.46	PB	Síndrome de Donnai Barrow	
MAGEL 2	missense variant	rs372805925	NM_019066.4:c.2971G>A NP_061939.3:p.Val991Ile	1	0	0	1	0.70	0.00	0.04	NR	-	Desconhecido
MAGEL 2	missense variant	rs138628273	NM_019066.4:c.3017C>G NP_061939.3:p.Thr1006Ser	1	0	0	1	0.70	0.20	0.08	PB	Síndrome de Prader-Willi e Síndrome de Schaaf-yang	Desconhecido
MAGEL 2	missense variant	rs2233070	NM_019066.4:c.3151C>A NP_061939.3:p.Leu1051Ile	2	0	0	2	1.41	3.38	4.35	B	-	Desconhecido
MC3R	missense variant	rs3827103	NM_019888.3:c.130G>A NP_063941.3:p.Val44Ile	11	0	1	10	8.45	7.65	25.22	NR	-	Benigna
MC4R	missense variant	rs2229616	NM_005912.2:c.307G>A NP_005903.2:p.Val103Ile	4	0	0	4	2.82	0.69	1.62	PB	Obesidade e diabetes monogénica	Benigna
MCHR1	missense variant	rs146628737	NM_005297.3:c.139C>G NP_005288.3:p.Leu47Val	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Possiv. danosa
MCHR1	missense variant	rs133072	NM_005297.3:c.94A>G NP_005288.3:p.Asn32Asp	41	0	15	26	39.44	63.52	66.77	NR	-	Benigna
MCHR1	synonymous variant	rs138921026	NM_005297.3:c.273T>C NM_005297.3:c.273T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.02	NR	-	
MCHR1	synonymous variant	rs133073	NM_005297.3:c.246C>T NM_005297.3:c.246C>T(p.=)	20	0	5	15	17.61	60.54	61.76	NR	-	
MKRN3	synonymous variant	rs2239669	NM_005664.4:c.663C>T NM_005664.4:c.663C>T(p.=)	33	0	3	30	25.35	31.61	20.99	NR	-	
NDN	synonymous variant	rs2192206	NM_002487.2:c.858C>T NM_002487.2:c.858C>T(p.=)	20	0	1	19	14.79	21.07	18.95	NR	-	
NEGR1	missense variant	rs142674139	NM_173808.2:c.94C>G :p.Leu32Val	1	0	0	1	0.70	0.69	0.22	NR	-	Benigna
NEGR1	missense variant	rs41289154	NM_173808.2:c.1040A>C NP_776169.2:p.Tyr347Ser	1	0	0	1	0.70	3.97	1.14	NR	-	Prov. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
NEGR1	synonymous variant	rs200181663	NM_173808.2:c.351G>A NM_173808.2:c.351G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.02	NR	-	
NEGR1	synonymous variant	rs61729931	NM_173808.2:c.702C>A NM_173808.2:c.702C>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	1.24	NR	-	
NEGR1	synonymous variant	rs3795696	NM_173808.2:c.897T>A NM_173808.2:c.897T>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.00	6.75	NR	-	
NEGR1	synonymous variant	rs1413368	NM_173808.2:c.888C>T NM_173808.2:c.888C>T(p.=)	65	0	62	3	89.44	99.60	84.96	NR	-	
NPY	missense variant	rs16139	NM_000905.3:c.20T>C NP_000896.1:p.Leu7Pro	3	0	0	3	2.11	3.97	1.7	B	Polimorfismo do neuropeptido Y	Benigna
NPY	synonymous variant	rs5574	NM_000905.3:c.204C>T NM_000905.3:c.204C>T(p.=)	42	0	8	34	35.21	47.02	37.42	NR	-	
NPY	synonymous variant	rs5573	NM_000905.3:c.150G>A NM_000905.3:c.150G>A(p.=)	49	0	12	37	42.96	50.70	51.40	NR	-	
NPY1R	missense variant	rs5578	NM_000909.5:c.1121A>C NP_000900.1:p.Lys374Thr	4	0	0	4	2.82	0.69	0.3	NR	-	Benigna
NPY2R	synonymous variant	rs2342674	NM_000910.2:c.159C>T NM_000910.2:c.159C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	2.87	NR	-	
NPY2R	synonymous variant	rs2880415	NM_000910.2:c.936C>T NM_000910.2:c.936C>T(p.=)	38	0	12	26	35.21	54.47	65.69	NR	-	
NPY2R	synonymous variant	rs1047214	NM_000910.2:c.585C>T NM_000910.2:c.585C>T(p.=)	53	0	16	37	48.59	54.47	70.03	NR	-	
NTRK2	splice region variant,intron variant	rs2289658	NM_006180.3:c.1765-7T>C	5	0	0	5	3.52	4.37	8.71	NR	-	
NTRK2	synonymous variant	rs138503321	NM_006180.3:c.2478G>A NM_006180.3:c.2478G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.30	0.1	NR	-	
NTRK2	synonymous variant	rs56142442	NM_006180.3:c.2430C>T NM_006180.3:c.2430C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.42	B	-	
NTRK2	synonymous variant	rs144491317	NM_006180.3:c.2361C>A NM_006180.3:c.2361C>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.46	NR	-	
NTRK2	synonymous variant	rs2289657	NM_006180.3:c.1848C>A NM_006180.3:c.1848C>A(p.=)	12	0	0	12	8.45	4.37	5.81	NR	-	
PAX6	synonymous variant	rs141873759	NM_001258462.1:c.130C>A NM_001258462.1:c.130C>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.08	B	-	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
PAX6	synonymous variant	rs149053004	NM_001258462.1:c.873G>A NM_001258462.1:c.873G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.20	0.12	PB	Aniridia e anoftalmia	
PCK1	missense variant	rs34103538	NM_002591.3:c.1735A>C NP_002582.3:p.Ser579Arg	1	0	0	1	0.70	0.00	0.86	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	Benigna
PCK1	missense variant	rs1804160	NM_002591.3:c.1102G>A NP_002582.3:p.Val368Ile	1	0	0	1	0.70	4.97	1.62	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	Benigna
PCK1	missense variant	rs11552145	NM_002591.3:c.826G>A NP_002582.3:p.Glu276Lys	20	0	1	19	14.79	17.20	8.6	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	Benigna
PCK1	missense variant	rs707555	NM_002591.3:c.550G>C NP_002582.3:p.Val184Leu	64	0	47	17	78.17	86.48	84.60	B	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	Benigna
PCK1	missense variant, splice region variant	rs8192708	NM_002591.3:c.799A>G NP_002582.3:p.Ile267Val	15	0	1	14	11.27	12.03	5.77	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	Prov. danosa
PCK1	synonymous variant	rs28359544	NM_002591.3:c.705C>T NM_002591.3:c.705C>T(p.=)	3	0	0	3	2.11	5.07	1.56	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs28359547	NM_002591.3:c.873C>T NM_002591.3:c.873C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	4.01	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs6070157	NM_002591.3:c.282C>T NM_002591.3:c.282C>T(p.=)	22	0	1	21	16.20	17.40	12.22	PB	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs1062600	NM_002591.3:c.453G>A NM_002591.3:c.453G>A(p.=)	36	0	11	25	33.10	47.32	29.51	B	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
PCK1	synonymous variant	rs1042523	NM_002591.3:c.462A>G NM_002591.3:c.462A>G(p.=)	40	0	12	28	36.62	52.29	31.33	B	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs1062601	NM_002591.3:c.489A>G NM_002591.3:c.489A>G(p.=)	41	0	12	29	37.32	52.29	31.41	B	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs1042521	NM_002591.3:c.69A>G NM_002591.3:c.69A>G(p.=)	42	0	13	29	38.73	52.78	39.7	B	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs2070756	NM_002591.3:c.1140T>C NM_002591.3:c.1140T>C(p.=)	53	0	26	27	55.63	74.25	78.69	B	Deficiência em GTP (enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase)	
PCK1	synonymous variant	rs142010387	NM_002591.3:c.1209C>T NM_002591.3:c.1209C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.06	NR	-	
PCSK1	missense variant	rs6232	NM_000439.4:c.661A>G NP_000430.3:p.Asn221Asp	5	0	0	5	3.52	3.28	2.1	RF	BMI	Benigna
PCSK1	missense variant	rs6235	NM_000439.4:c.2069G>C NP_000430.3:p.Ser690Thr	26	0	7	19	23.24	25.94	24.38	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	Benigna
PCSK1	missense variant	rs6234	NM_000439.4:c.1993C>G NP_000430.3:p.Gln665Glu	12	0	6	6	12.68	26.04	25.92	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	Benigna
PCSK1	synonymous variant	rs6231	NM_000439.4:c.612C>T NM_000439.4:c.612C>T(p.=)	3	0	0	3	2.11	0.60	5.35	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	
PCSK1	synonymous variant	rs6233	NM_000439.4:c.1650T>C NM_000439.4:c.1650T>C(p.=)	41	0	8	33	34.51	36.78	34.29	PB	Obesidade monogénica não síndrómica	
POMC	inframe insertion	rs10654394	NM_000939.2:c.280_288AGCA GCGGC NP_000930.1:p.94_96SSG	1	0	0	1	0.70	4.27	7.71	PB	Obesidade monogénica não síndrómica e deficiência em pro-opiomelanocortina	
POMC	missense variant	rs80326661	NM_000939.2:c.641A>G NP_000930.1:p.Glu214Gly	3	0	0	3	2.11	0.69	0.14	VUS	-	Possiv. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
POMC	missense variant	rs28932472	NM_000939.2:c.706C>G NP_000930.1:p.Arg236Gly	2	0	0	2	1.41	0.30	0.24	RF	Obesidade infantil	Prov. danosa
POMC	synonymous variant	rs8192605	NM_000939.2:c.18C>T NM_000939.2:c.18C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	1.69	0.56	PB	Obesidade monogénica não síndromica e deficiência em pro-opiomelanocortina	
PPARG	missense variant	rs186728157	NM_015869.4:c.1364A>G NP_056953.2:p.Glu455Gly	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	Benigna
PPARG	missense variant	rs1801282	NM_015869.4:c.34C>G NP_056953.2:p.Pro12Ala	8	0	0	8	5.63	12.03	7.03	PB	Obesidade e Diabetes Mellitus não insulino-dependente	Benigna
PPARG	synonymous variant	rs3856806	NM_015869.4:c.1431C>T NM_015869.4:c.1431C>T(p.=)	12	0	1	11	9.15	12.13	12.66	PB	Obesidade e Diabetes Mellitus não insulino-dependente	
PRKAR1A	intron variant	rs3841514	NM_212471.2:c.349-5dupT	20	0	2	18	15.49	24.65	22.52	PB	Acrodisostose	
PRKAR1A	synonymous variant	rs3730349	NM_212471.2:c.87G>A NM_212471.2:c.87G>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	3.08	0.78	B	Acrodisostose	
SH2B1	missense variant	rs190981290	NM_001145795.1:c.1988C>T NP_001139267.1:p.Ala663Val	1	0	0	1	0.70	0.89	0.26	NR	-	Benigna
SH2B1	missense variant	rs7498665	NM_001145795.1:c.1450A>G NP_001139267.1:p.Thr484Ala	15	0	4	11	13.38	32.90	26.14	NR	-	Benigna
SH2B1	splice region variant, intron variant	rs117918991	NM_001145795.1:c.1513+5C>T	3	0	0	3	2.11	1.59	0.56	NR	-	
SH2B1	synonymous variant	rs751149899	NM_001145795.1:c.234C>T NM_001145795.1:c.234C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
SIM1	missense variant	rs146866401	NM_005068.2:c.1994G>A NP_005059.2:p.Arg665His	1	0	0	1	0.70	0.00	0.6	PB	Síndrome de hipogenesia oromandibular e dos membros	Prov. danosa
SIM1	missense variant	rs3734354	NM_005068.2:c.1054C>A NP_005059.2:p.Pro352Thr	13	0	0	13	9.15	14.71	17.81	B	Síndrome de Schaaf-yang	Benigna
SIM1	missense variant	rs3734355	NM_005068.2:c.1112C>T NP_005059.2:p.Ala371Val	13	0	0	13	9.15	14.71	17.85	B	Síndrome de Schaaf-yang	Benigna

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
SIM1	synonymous variant	rs41318041	NM_005068.2:c.1959C>T NM_005068.2:c.1959C>T(p.=)	3	0	0	3	2.11	2.09	0.66	NR	-	
SLC6A14	synonymous variant	rs12720074	NM_007231.3:c.84T>A NM_007231.3:c.84T>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	9.66	5.4	NR	-	
SNRPN, SNURF	intron variant	rs112560608	NM_022807.2:c.3+10A>G	1	0	0	1	0.70	0.30	0.36	VUS	Autismo	
SNRPN, SNURF	synonymous variant	rs368621460	NM_022807.2:c.462T>A NM_022807.2:c.462T>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
SORCS1	intron variant	rs79122447	NM_001013031.2:c.2304-9T>C	1	0	0	1	0.70	0.10	0.84	NR	-	
SORCS1	intron variant	rs41310306	NM_001013031.2:c.3371+11C>G	1	0	0	1	0.70	2.38	1.12	NR	-	
SORCS1	missense variant	-	NM_001013031.2:c.2491A>C NP_001013049.1:p.Thr831Pro	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Prov. danosa
SORCS1	missense variant	-	NM_001013031.2:c.1072A>G NP_001013049.1:p.Arg358Gly	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Possiv. danosa
SORCS1	missense variant	rs61734226	NM_001013031.2:c.2366C>A NP_001013049.1:p.Pro789Gln	1	0	0	1	0.70	0.00	1.64	NR	-	Possiv. danosa
SORCS1	synonymous variant	rs61735888	NM_001013031.2:c.2571C>T NM_001013031.2:c.2571C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	0.42	NR	-	
SORCS1	synonymous variant	rs61734238	NM_001013031.2:c.2400G>A NM_001013031.2:c.2400G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.10	0.88	NR	-	
SORCS1	synonymous variant	rs61732174	NM_001013031.2:c.135C>G NM_001013031.2:c.135C>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	7.65	3.85	NR	-	
SORCS1	synonymous variant	rs3802553	NM_001013031.2:c.2511T>C NM_001013031.2:c.2511T>C(p.=)	13	0	0	13	9.15	8.15	23.2	NR	-	
SORCS1	synonymous variant	rs7082289	NM_001013031.2:c.3069G>A NM_001013031.2:c.3069G>A(p.=)	14	0	0	14	9.86	7.65	23.7	NR	-	
SORCS1	synonymous variant	rs4917481	NM_001013031.2:c.2769C>T NM_001013031.2:c.2769C>T(p.=)	24	0	0	24	16.90	17.10	37.6	NR	-	
SPG11	synonymous variant	rs80338869	NM_025137.3:c.7023C>T NM_025137.3:c.7023C>T(p.=)	8	0	2	6	7.04	3.18	1.18	B	Paraplegia espástica 11	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSg	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
SPG11	missense variant	rs1238834882	NM_025137.3:c.4973A>G NP_079413.3:p.His1658Arg	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
SPG11	missense variant	rs750200448	NM_025137.3:c.1619G>A NP_079413.3:p.Arg540His	1	0	0	1	0.70	-	-	VUS	Paraplegia espástica 11	Possiv. danosa
SPG11	missense variant	rs138103656	NM_025137.3:c.4365G>C NP_079413.3:p.Trp1455Cys	1	0	0	1	0.70	0.10	0.02	VUS	Paraplegia espástica 11	Benigna
SPG11	missense variant	rs140824939	NM_025137.3:c.6224A>G NP_079413.3:p.Asn2075Ser	1	0	0	1	0.70	0.40	0.18	PB	Paraplegia espástica 11	Benigna
SPG11	missense variant	rs80338868	NM_025137.3:c.808G>A NP_079413.3:p.Val270Ile	1	0	0	1	0.70	0.50	0.32	B	Paraplegia espástica 11	Possiv. danosa
SPG11	missense variant	rs139687202	NM_025137.3:c.2656T>C NP_079413.3:p.Tyr886His	1	0	0	1	0.70	0.00	0.4	B	Paraplegia espástica 11	Benigna
SPG11	missense variant	rs79708848	NM_025137.3:c.1698T>G NP_079413.3:p.Asp566Glu	4	0	0	4	2.82	1.39	0.52	B	Paraplegia espástica 11	Possiv. danosa
SPG11	missense variant	rs77697105	NM_025137.3:c.1108G>A NP_079413.3:p.Glu370Lys	1	0	0	1	0.70	1.59	0.56	B	Paraplegia espástica 11	Benigna
SPG11	missense variant	rs3759873	NM_025137.3:c.1348A>G NP_079413.3:p.Ile450Val	2	0	0	2	1.41	0.69	3.89	PB	Paraplegia espástica 11	Benigna
SPG11	missense variant	rs3759871	NM_025137.3:c.1388T>C NP_079413.3:p.Phe463Ser	34	0	11	23	31.69	45.13	47.48	B	Paraplegia espástica 11	Benigna
SPG11	splice region variant,intron variant	rs374214706	NM_025137.3:c.2067+8C>T	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	
SPG11	stop gained	rs199588440	NM_025137.3:c.1951C>T NP_079413.3:p.Arg651Ter	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	P	Paraplegia espástica 11	
SPG11	synonymous variant	rs139532029	NM_025137.3:c.3486T>C NM_025137.3:c.3486T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	PB	Paraplegia espástica 11	
SPG11	synonymous variant	rs150761878	NM_025137.3:c.6258G>T NM_025137.3:c.6258G>T(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.79	0.24	B/PB	Paraplegia espástica 11	
SPG11	synonymous variant	rs36014111	NM_025137.3:c.3420G>A NM_025137.3:c.3420G>A(p.=)	1	0	0	1	0.70	4.67	1.56	B	Paraplegia espástica 11	
SPG11	synonymous variant	rs35932349	NM_025137.3:c.6330G>A NM_025137.3:c.6330G>A(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.69	3.57	PB	Paraplegia espástica 11	
SPG11	synonymous variant	rs3759874	NM_025137.3:c.1347C>T NM_025137.3:c.1347C>T(p.=)	2	0	0	2	1.41	0.69	3.83	PB	Paraplegia espástica 11	
TBX3	missense variant	rs1423724888	NM_016569.3:c.1302C>G NP_057653.3:p.Asp434Glu	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Possiv. danosa

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
TBX3	synonymous variant	rs142592809	NM_016569.3:c.61C>T NM_016569.3:c.61C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.79	0.24	B/PB	Síndrome Ulnar-mamário	
TBX3	synonymous variant	rs34627348	NM_016569.3:c.837C>T NM_016569.3:c.837C>T(p.=)	3	0	0	3	2.11	1.19	0.52	PB	Síndrome Ulnar-mamário	
TBX3	synonymous variant	rs146589414	NM_016569.3:c.1233G>C NM_016569.3:c.1233G>C(p.=)	3	0	0	3	2.11	2.48	0.8	PB	Síndrome Ulnar-mamário	
TBX3	synonymous variant	rs35069811	NM_016569.3:c.619C>T NM_016569.3:c.619C>T(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	1.46	PB	Síndrome Ulnar-mamário	
THRB	intron variant	rs13063628	NM_000461.4:c.1144+9G>A	2	0	0	2	1.41	14.02	6.29	B	Resistência à hormona tiroideia	
THRB	missense variant	rs9865746	NM_000461.4:c.647A>G NP_000452.2:p.Asp216Gly	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	Benigna
THRB	synonymous variant	rs13081063	NM_000461.4:c.1251T>C NM_000461.4:c.1251T>C(p.=)	2	0	0	2	1.41	3.97	1.14	B	Resistência à hormona tiroideia	
THRB	synonymous variant	rs3752874	NM_000461.4:c.735C>T NM_000461.4:c.735C>T(p.=)	23	0	1	22	16.90	15.31	15.75	B	Resistência à hormona tiroideia	
TMEM67	missense variant	-	NM_153704.5:c.158A>G NP_714915.3:p.Gln53Arg	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
TMEM67	missense variant	rs558566529	NM_153704.5:c.1561C>T NP_714915.3:p.His521Tyr	1	0	0	1	0.70	0.00	0.02	NR	-	Benigna
TMEM67	missense variant	rs116445698	NM_153704.5:c.2161C>T NP_714915.3:p.Pro721Ser	1	0	0	1	0.70	0.30	0.08	B	-	Benigna
TMEM67	missense variant	rs35793208	NM_153704.5:c.781G>A NP_714915.3:p.Asp261Asn	2	0	0	2	1.41	2.19	1.04	B	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	Benigna
TMEM67	missense variant	rs3134031	NM_153704.5:c.1810A>G NP_714915.3:p.Ile604Val	52	0	21	31	51.41	61.23	69.29	PB	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	Benigna
TMEM67	splice region variant,intron variant	rs772449181	NM_153704.5:c.2556+4T>G	1	0	0	1	0.70	-	-	VUS	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	
TMEM67	splice region variant,intron variant	rs3097427	NM_153704.5:c.1066-3C>T	55	0	23	32	54.93	59.44	71.51	B	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	
TMEM67	splice region variant,synonymous variant	rs111991507	NM_153704.5:c.717A>G NM_153704.5:c.717A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	PB	-	
TMEM67	synonymous variant	-	NM_153704.5:c.2583T>C NM_153704.5:c.2583T>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	

Gene	Consequence	dbSNP ID	HGVSc / HGVSp	Total	Hem	Ho	He	Freq (%)	Freq Eur (%)	Freq GI. (%)	ClinVar		PolyPhen HumDIV
TMEM67	synonymous variant	rs117195541	NM_153704.5:c.2397T>C NM_153704.5:c.2397T>C(p.=)	4	0	0	4	2.82	1.39	0.84	B/ VUS	Síndrome de Bardet-Biedl	
TMEM67	synonymous variant	rs16916221	NM_153704.5:c.2892A>C NM_153704.5:c.2892A>C(p.=)	1	0	0	1	0.70	0.00	6.93	B/PB	Síndrome de Joubert e Meckel-Gruber	
UCP1	missense variant	rs2270565	NM_021833.4:c.685A>T NP_068605.1:p.Met229Leu	8	0	1	7	6.34	7.85	7.21	NR	-	Benigna
UCP1	missense variant	rs45539933	NM_021833.4:c.190G>A NP_068605.1:p.Ala64Thr	8	0	1	7	6.34	7.65	8.58	NR	-	Benigna
UCP1	synonymous variant	rs1268761553	NM_021833.4:c.27A>G NM_021833.4:c.27A>G(p.=)	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	
UCP2	missense variant	rs660339	NM_003355.2:c.164C>T NP_003346.2:p.Ala55Val	29	0	7	22	25.35	40.46	41.61	B	-	Benigna
UCP3	missense variant	rs143786748	NM_003356.3:c.211A>C NP_003347.1:p.Thr71Pro	1	0	0	1	0.70	-	-	NR	-	Benigna
UCP3	missense variant	rs8179180	NM_003356.3:c.25G>A NP_003347.1:p.Val9Met	1	0	0	1	0.70	0.40	1.76	NR	-	Possiv. danosa
UCP3	missense variant	rs2229707	NM_003356.3:c.304G>A NP_003347.1:p.Val102Ile	1	0	0	1	0.70	0.50	4.31	P	Obesidade severa e Diabetes tipo 2	Benigna
UCP3	splice donor variant	rs45476292	NM_003356.3:c.824+1G>A	2	0	0	2	1.41	0.30	3.29	NR	-	
UCP3	splice region variant,intron variant	rs77012485	NM_003356.3:c.127-7C>T	1	0	0	1	0.70	0.00	0.8	NR	-	
UCP3	synonymous variant	rs1800006	NM_003356.3:c.297T>C NM_003356.3:c.297T>C(p.=)	17	0	1	16	12.68	24.16	34.33	NR	-	
UCP3	synonymous variant	rs2075577	NM_003356.3:c.630C>T NM_003356.3:c.630C>T(p.=)	52	0	15	37	47.18	53.78	59.06	NR	-	