

Beatriz Rosmaninho Esteves

Distúrbios alimentares: contributos da genética na anorexia nervosa

Ciências da Nutrição
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Fernando Pessoa
Porto, 2020

Distúrbios alimentares: contributos da genética na anorexia nervosa

Beatriz Rosmaninho Esteves

Distúrbios alimentares: contributos da genética na anorexia nervosa

Ciências da Nutrição
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Fernando Pessoa
Porto, 2020

Beatriz Rosmaninho Esteves

Distúrbios alimentares: contributos da genética na anorexia nervosa

Declaro para os devidos efeitos ter atuado com integridade na elaboração deste Trabalho de Projeto, atesto a originalidade do trabalho, confirmo que não incorri em plágio e que todas as frases que retirei de textos de outros autores foram devidamente citadas ou redigidas com outras palavras e devidamente referenciadas na bibliografia.

(Beatriz Rosmaninho Esteves)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciada em Ciências da Nutrição.

Orientadora:
Professora Maria Gil Ribeiro

Dedicatória:

À minha mãe e meu pai.

Agradeço a vocês pela oportunidade que disponibilizaram de realizar mais uma etapa da minha vida, na qual depus todo o meu empenho nestes quatro anos que apesar de serem difíceis me tornaram uma pessoa melhor e mais dedicada.

Dedico a vocês este trabalho.

Índice:

1.Introdução	- 11 -
2. Metodologia	- 12 -
3. Desenvolvimento	- 13 -
3.1. Critérios de diagnóstico	- 13 -
3.2. Prevalência	- 14 -
3.3. Fatores de risco	- 15 -
3.3.1 História familiar	- 15 -
3.3.2 Traços de personalidade.....	- 16 -
3.3.3 Fatores ambientais.....	- 16 -
3.3.4 Fatores biológicos	- 17 -
3.4. Fatores de risco genético	- 18 -
3.4.1 Estudos familiares	- 18 -
3.4.2 Estudos de ligação.....	- 18 -
3.4.3 Estudos de associação	Erro! Indicador não definido.
3.4.4 Sequenciação de nova geração.....	- 21 -
3.4.5 Epigenética	- 21 -
3.4.5.1 Metilação global do DNA	- 22 -
3.4.5.2 Estudo de genes candidatos.....	- 23 -
3.4.5.3 Estudo de associação global do epigenoma	- 23 -
3.4.6 Estudos de expressão génica	- 25 -
3.4.7 Estudos de interação gene-gene	- 25 -
3.4.8 Genómica nutricional	- 25 -
3.5 Suplementação nutricional	- 26 -
4. Discussão	- 27 -
5. Conclusão	- 29 -
6. Referências bibliográficas	- 31 -
7. Agradecimentos	- 31 -

Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas:

AN – Anorexia nervosa; *Anorexia nervosa*.

BN – Bulimia nervosa; *Bulimia nervosa*.

DA – Distúrbio alimentar; *Eating disorder*.

DSM-5 – Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, versão 5; *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth edition*.

GWAS – Estudo de associação genómica de larga escala. *Genome-wide association studies*.

MAOA – Monoamina oxidase A; *Monoamine oxidase A*.

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único; *Single-nucleotide polymorphism*.

TCAP – Transtorno da compulsão alimentar periódica; *Binge eating disorder*.

Eating disorders: Contributions of genetics to anorexia nervosa

Distúrbios alimentares: Contributos da genética na anorexia nervosa

Beatriz Rosmaninho Esteves¹; Maria Gil Ribeiro²

1. Estudante finalista do 1º Ciclo de Estudos em Ciências da Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto.
2. Maria Gil Roseira Ribeiro. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto

Beatriz Rosmaninho Esteves
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Fernando Pessoa
Rua Delfim Maia, 334 4200-253 Porto
E-mail: 34986@ufp.edu.pt

Contagem de palavras: 7469
Número de figuras/tabelas: 0
Número de referências bibliográficas: 13
Conflito de interesses: Nada a declarar.

Resumo

Os distúrbios alimentares têm sido considerados doenças psiquiátricas influenciadas, principalmente, por fatores familiares e socioculturais. Etiopatologicamente multifatoriais, estas doenças afetam, principalmente, adolescentes e adultos jovens do sexo feminino. Nestes doentes, as alterações do comportamento alimentar desencadeiam alterações biológicas, psicológicas e sociais que estão frequentemente associadas a um aumento de morbidade e de mortalidade. Deste grupo de doenças fazem parte a anorexia nervosa, a bulimia nervosa e o transtorno da compulsão alimentar periódica. No Ocidente, estas doenças afetam cerca de 5% da população. A sua heterogeneidade subfenotípica, o número relativamente reduzido de casos e a diversidade de fatores etiológicos tem dificultado a compreensão das causas moleculares destas doenças. No sentido de compreender a contribuição da genética para a elucidação da sua etiopatologia, o presente trabalho explora os principais fatores de risco para o desenvolvimento das doenças do comportamento alimentar, em particular os fatores de risco genético associados à anorexia nervosa. Apesar da diversidade de abordagens metodológicas utilizadas, até à presente, e tanto quanto é do nosso conhecimento, nenhum fator causal foi conclusivamente identificado. Contudo, globalmente, os resultados desses estudos não só suportam o envolvimento de fatores genéticos e epigenéticos no desenvolvimento dos distúrbios alimentares, como revelaram potenciais factores causais muito promissores e que, por isso, deverão continuar a ser investigados no futuro.

Palavras-chave: Anorexia nervosa; Distúrbios alimentares; Epigenética; Fatores de risco; Génética.

Abstract

Eating disorders have been considered psychiatric diseases influenced mainly by familial and socio-cultural factors. As multifactorial diseases, they mainly affect female adolescents and young adults. In these patients, changes in eating behaviour trigger biological, psychological and social changes that are often associated with increased morbidity and mortality. This group of diseases includes anorexia nervosa, bulimia nervosa and binge eating disorder. In the West, these diseases affect about 5% of the population. Its sub-phenotypic heterogeneity, the actually reduced number of cases and the diversity of etiological factors have made it difficult to understand the molecular causes of these diseases. In order to understand the contribution of genetics to the elucidation of its etiopathology, the present work explores the main risk factors for the development of diseases of eating behaviour, in particular the genetic risk factors associated with anorexia nervosa. Despite the diversity of methodological approaches used to date, to the best of our knowledge, no causal factors have been conclusively identified. However, globally, the results of these studies not only support the involvement of genetic and epigenetic factors in the development of eating disorders, but have also revealed potential very promising causal factors that should continue to be investigated in the future.

Key-words: Anorexia nervosa; Eating disorders; Epigenetics; Genetic; Risk factors.

1.Introdução

Durante várias décadas os distúrbios alimentares (DAs) foram considerados doenças psiquiátricas influenciadas, principalmente, por fatores familiares e socioculturais. No entanto, os estudos de investigação têm revelado que a genética deverá ter um papel importante na etiologia destas doenças (1). Por isso, a história natural dos DAs está relacionada com a cronologia dos avanços científicos registados ao nível da genética. Se a primeira contribuição significativa para a área científica da genética foi efetuada por Gregor Johann Mendel (1822-1884) com a demonstração da hereditariedade dominante e da hereditariedade recessiva, foi com Ernst Rüdin (1874-1952), no início do século XX, que a genética começou a ser aplicada no domínio da psiquiatria (2-4).

Na área científica da genética o passo seguinte consistiu na elucidação da base molecular da hereditariedade. Subsequentemente, a genética passou a compreender dois domínios científicos interdependentes, a genética clássica e a genética molecular. Esses desenvolvimentos permitiram a realização de estudos de associação genética que visam a identificação regiões genómicas onde se encontram localizados genes potencialmente associados a doenças específicas (2-4). Nos últimos 40 anos, a maioria dos genes identificados estão associados a doenças monogénicas raras ou a subgrupos de doenças mais comuns mas geneticamente homogéneas, como acontece com o gene *BCRA1* associado ao cancro da mama familiar. Apesar do esforço realizado para a identificação dos genes envolvidos no desenvolvimento de doenças humanas prevalentes, incluindo o cancro, as doenças cardiovasculares, as doenças metabólicas e as doenças psiquiátricas, o facto de serem doenças complexas tem dificultado a elucidação da sua componente genética (1). Com a sequenciação do genoma humano no início do século XXI, os estudos de genética molecular passaram a incluir a possibilidade de análises em larga escala através de tecnologias genómicas acelerando, assim, os avanços científicos sobre as causas genéticas destas doenças (2-4).

Os DAs são doenças etiopatologicamente multifatoriais resultantes da combinação de fatores genéticos, fatores biológicos e fatores ambientais. São caracterizados por graves alterações do comportamento alimentar e afetam, na sua maioria, adolescentes e adultos jovens do sexo feminino. Estas doenças podem causar alterações biológicas, psicológicas e

sociais estando associadas a um aumento de morbilidade e mortalidade (4-6).

A sua crescente importância epidemiológica tem suscitado, ao longo do tempo, sucessivas discussões visando uma revisão contínua dos critérios de diagnóstico destas doenças. Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, versão 5 (DSM-5), os três distúrbios alimentares formalmente reconhecidos incluem a anorexia nervosa (AN), a bulimia nervosa (BN) e o transtorno da compulsão alimentar periódica (TCAP) (1-5, 8, 12). No ocidente, estas doenças afetam cerca de 5% da população (5). Embora a AN seja, relativamente, menos comum do que a BN e o TCAP, o seu índice de mortalidade é mais elevado, inclusivamente superior ao de todas as outras doenças psiquiátricas, com exceção das situações de abuso de substâncias ou depressão pós-parto (8). Antes do advento da genómica, o risco de transmissão destas doenças era estimado indiretamente a partir de estudos familiares e estudos de gémeos. A partir do final da década de 90 foram aplicadas metodologias genómicas no estudo de várias doenças psiquiátricas que permitem estimar diretamente o risco hereditário (7). No âmbito dos DAs, os estudos genéticos em doentes com BM e TCAP são relativamente mais escassos do que em doentes com AN (9).

No sentido de compreender a contribuição da genética ao longo das últimas décadas para a elucidação da etiopatologia das doenças do comportamento alimentar, o presente trabalho explora os principais fatores de risco desenvolvendo, em particular, os fatores de risco genético no caso da anorexia nervosa.

2. Metodologia

Para a elaboração do presente trabalho foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed reportada, maioritariamente, aos últimos 5 anos. O critério utilizado consistiu (i) na utilização de duas expressões resultantes da conjugação de três palavras-chave, “distúrbios alimentares e genética” e “distúrbios alimentares e epigenética” e (ii) na configuração dos filtros para a seleção de estudos realizados em humanos e de artigos completos disponíveis em português ou em inglês. Após a identificação de um total de 172 publicações, 157 sinalizados com a expressão “distúrbios alimentares e genética” e 15 identificados com a expressão “distúrbios alimentares e epigenética”, procedeu-se à

eliminação dos artigos em duplicado. Após a leitura do título e do resumo, selecionaram-se 37 publicações, 31 referentes à expressão “distúrbios alimentares e genética” e 6 à expressão “distúrbios alimentares e epigenética” por incluírem informação considerada relevante. Após a sua leitura integral, foram selecionados 13 artigos de revisão por terem sido considerados globalmente relevantes pela atualidade, clareza e profundidade de análise da informação, incluindo algumas publicações anteriores aos últimos cinco anos e que foram identificadas na sequência da leitura dos artigos.

3. Desenvolvimento

3.1. Critérios de diagnóstico

A AN é uma doença psiquiátrica grave caracterizada pela recusa do doente em manter um peso corporal mínimo, e pela insatisfação e obsessão com o peso e a forma do corpo. Subsequentemente, o doente tende a assumir comportamentos de risco para perpetuar a perda de peso, tais como dietas restritivas, jejum e/ou exercício físico excessivo (1, 3, 4, 5). Esta doença compreende dois subtipos, a forma restritiva (ANR), caracterizada por restrição alimentar sem purgar, e a forma compulsiva/purgativa (ANBP) que envolve períodos de restrição alimentar e/ou purga (1, 3, 4, 5). Sucintamente, os principais critérios para o diagnóstico de AN são o peso corporal significativamente baixo tendo em consideração a idade, o sexo e o estado de saúde global, medo em aumentar de peso, e a percepção corporal alterada. A restrição alimentar está frequentemente associada a problemas de saúde, incluindo atraso de crescimento, osteopenia, amenorreia e insuficiência renal (1, 3-5, 10) Adicionalmente poderão apresentar arritmias cardíacas e alterações da função tiroideia (3).

Na BN são observados episódios recorrentes de compulsão alimentar. A compulsão alimentar é caracterizada pelo consumo de uma quantidade significativamente elevada de alimentos num curto período de tempo e com a sensação de perda de controlo sobre essa ação. Em virtude disso, observam-se comportamentos compensatórios, tais como o vômito auto-induzido, o uso indevido de laxantes, diuréticos, enemas, exercício físico excessivo ou abuso de medicamentos, para evitar o aumento do peso. Esse comportamento deve ocorrer no mínimo uma vez por semana durante um período de três meses e revelar uma preocupação excessiva com a forma e o peso corporal. Tal como na AN, os doentes com este distúrbio

alimentar também demonstram medo intenso quanto ao aumento do peso e preocupação excessiva com a forma corporal. (3-5, 10).

Indivíduos com TCAP não revelam um comportamento compensatório e apresentam um risco elevado de desenvolvimento de obesidade (5). A doença é caracterizada pelo consumo intermitente de grandes quantidades de alimentos e pela sensação de perda de controle (compulsão alimentar), pelo menos uma vez por semana durante três meses. O doente não adopta estratégias compensatórias extremas e revela um sofrimento intenso em relação à compulsão alimentar (3, 5). O critério de diagnóstico é baseado na observação de, pelo menos, três dos seguintes sinais ou sintomas: comer mais rapidamente do que o normal, comer até sentir desconforto, comer grandes quantidades de alimentos mesmo sem sentir fome, comer sozinho para não ficar constrangido, sentir-se desgostoso, deprimido ou culpado após o episódio de compulsão alimentar (3- 5, 10).

3.2. Prevalência

Todos os DAs são mais prevalentes no sexo feminino do que no sexo masculino. Nos países ocidentais, a prevalência de AN ao longo da vida é de 0,3 a 3,0% em mulheres e 0,24–0,30% em homens, apresentando uma incidência máxima entre os 10 e 19 anos de idade (5). A BN é igualmente mais prevalente em mulheres, 0,88–4,6%, em comparação com homens, 0,10-1,5%. Neste caso, observa-se uma maior variabilidade quanto à idade correspondente ao valor de incidência máxima da doença uma vez que são observados dois grupos etários, entre 10-20 anos ou 25-29 anos de idade (5). A prevalência de TCAP ao longo da vida é também mais elevada no sexo feminino, 2,5–3,5%, do que no sexo masculino, 1,5–2,0%. Quanto à distribuição da sua incidência ao longo da vida, três estudos observaram uma distribuição relativamente uniforme independentemente da faixa etária, mas um quarto estudo observou que a idade média de início ocorre, frequentemente, entre 18,3-25,4 anos (5).

A prevalência de AN e BN parece ser significativamente inferior em países não ocidentais do que em países ocidentais, o mesmo acontecendo para mulheres de etnia afro-americana em comparação com mulheres americanas brancas. No geral, as eventuais discrepâncias observadas na literatura quanto à prevalência destas doenças podem dever-se

à aplicação de critérios de diagnóstico heterogéneos, dificuldade na identificação de doentes que, frequentemente, tentam ocultar a doença, utilização de diferentes abordagens metodológicas e/ou dimensão reduzida da amostra (5).

Embora a AN seja, geralmente, menos comum do que a BN e o TCAP, ela é, no entanto, o distúrbio alimentar com maior taxa de mortalidade, inclusivamente acima de todos os outros transtornos psiquiátricos, com exceção do abuso de substâncias e da depressão pós-parto. (1, 4, 5, 8).

3.3. Fatores de risco

Os DAs são doenças complexas, relativamente raras, e, por isso, representam um enorme desafio para a identificação de fatores de risco, não só porque o número de casos identificados é reduzido, mas também pela heterogeneidade de fatores etiológicos. Para além disso, é difícil a diferenciação entre sintoma e fator de risco (por exemplo, dieta e altos níveis de exercício), e nem sempre é clara a diferenciação dos sintomas entre os subtipos de DA (1).

Existem vários fatores de risco associados aos DAs, tanto ambientais como genéticos, que são a seguir desenvolvidos.

3.3.1 História familiar

Os DAs resultam da interação de fatores genéticos e fatores ambientais. Uma história familiar de AN é, por isso, um fator de risco para esta doença (1). De facto, familiares de primeiro grau de indivíduos com AN têm um risco, aproximadamente, dez vezes superior de desenvolver a doença do que os familiares de indivíduos não afetados (1,3). Contudo, esta observação tanto pode resultar da presença de alterações em genes específicos, da ação de fatores ambientais ou da combinação de ambos. Não obstante, é improvável que a fisiopatologia da AN seja uniforme, bem como o seu fenótipo. Deste modo, em qualquer amostra de indivíduos clinicamente diagnosticados com AN provavelmente estarão incluídos indivíduos com fenótipos resultantes essencialmente de alterações genéticas, essencialmente de fatores ambientais ou de interações entre variantes genéticas e fatores ambientais. Assim é possível que, adicionalmente ao fenómeno de agregação familiar, seja observado um risco aumentado para uma matriz de distúrbios alimentares em familiares de indivíduos com anorexia nervosa. Contudo, mesmo que seja observada agregação familiar, a sua causa exata,

genética e/ou ambiental, não é, ainda clara (1). Daí a importância que assumem os critérios de diagnóstico que, periodicamente, são revistos para traduzir, com o maior rigor possível, esta heterogeneidade.

3.3.2 Traços de personalidade

As características de personalidade que estão associadas aos DAs incluem perfeccionismo, personalidade obsessiva-compulsiva, perturbações neuróticas, tais como transtornos de ansiedade e depressão, emocionalidade negativa e/ou baixa cooperatividade (1-3, 5). Em doentes com AN observa-se, frequentemente, a diminuição na procura de novidade, baixa capacidade de resposta emocional, diminuição do prazer e da procura pelo prazer, e redução da espontaneidade social. Geralmente, os transtornos de ansiedade antecedem a idade de início da doença enquanto que a depressão tende a persistir após a recuperação do doente (1). Os doentes com BN tendem a ser impulsivos e a procurar novas experiências. Já o TCAP é associado ao perfeccionismo e à procura de sensações. De um modo geral, comorbidades psiquiátricas são frequentes em todos os DAs sendo a sua prevalência estimada entre 31,0 e 88,9%. Os transtornos de depressão e ansiedade são as comorbidades mais prevalentes. No entanto, o transtorno afetivo bipolar, o transtorno obsessivo-compulsivo e uso de substâncias também são comuns (5).

3.3.3 Fatores ambientais

Indivíduos diagnosticados com DAs são mais propensos a sofrerem abuso ou trauma do que a população em geral. Especificamente, o abuso sexual foi relatado em 20-50% dos indivíduos com AN e BN. Em mulheres com DA que sofrerem abuso sexual a frequência de comorbidades psiquiátricas é, geralmente, mais elevada. Também é observada uma maior prevalência de DAs entre atletas, modelos, dançarinos e artistas, uma vez que estas atividades são normalmente associadas a uma restrição alimentar e à idealização física do corpo. Também ao nível da dinâmica familiar, a presença de familiares próximos superprotetores, intrusivos, controladores ou emocionalmente indiferentes tem sido sugerida como potencialmente associada à DA (5).

3.3.4 Fatores biológicos

O sexo e a idade são fatores que podem influenciar o aparecimento e o desenvolvimento dos DAs. Tal como referido anteriormente, a doença é mais prevalente no sexo feminino. Deste modo, é possível que a interação entre fatores ambientais e as diferenças genéticas e biológicas de mulheres vs. homens justifique, pelo menos em parte, a diferente prevalência da doença em função do sexo. Estudos longitudinais realizados com gémeos sugerem que o risco genético para o desenvolvimento de DAs aumenta do início ao fim da adolescência. Uma possível explicação para esta observação reside nas alterações hormonais específicas que ocorrem na puberdade, incluindo o aumento do nível de estradiol. O estradiol regula a transcrição de genes, muitos deles expressos no sistema nervoso central. Assim, durante a puberdade é possível que o estradiol contribua para a produção de fatores moleculares desencadeadores dos DAs. Um elevado número de estudos também sugere que a nutrição materna durante a gestação e a disponibilidade de nutrientes para o feto poderá ter impacto significativo no metabolismo de tal forma que as alterações desencadeadas persistam com a idade, eventualmente através de modificações epigenéticas (2-4, 9).

Vários fatores neurobiológicos também têm sido implicados na etiologia dos DAs. Níveis reduzidos de serotonina têm sido observados em doentes com formas severas de AN e BN. A serotonina está envolvida na regulação do peso corporal, especificamente através do comportamento alimentar (1). Para além disso, situações que originem perdas de função podem contribuir para o desenvolvimento de transtornos depressivos ou comportamentos obsessivo-compulsivo em doentes com AN, ou comportamentos impulsivo-agressivo, tal como observado em doentes com BN. Estas alterações poderão contribuir para o desenvolvimento de outros sintomas, tais como ansiedade, perfeccionismo, obsessões com a simetria que, associados a influências psicossociais, potenciarão o desenvolvimento destas doenças. Há a hipótese de que outro neurotransmissor, a dopamina, esteja envolvido no desenvolvimento dos DAs; de facto, o aumento da atividade dopaminérgica pode estar envolvida em muitos dos principais sintomas relacionados à AN, nomeadamente repulsão alimentar, perda de peso, hiperatividade, anormalidades menstruais (amenorreia), distorção da imagem corporal e comportamento obsessivo-compulsivo. (1)

3.4. Fatores de risco genético

Do ponto de vista genético, a AN é o DA mais bem estudado. Para os restantes tipo de DAs, os resultados são escassos e observam-se frequentemente discrepâncias que resultam da dimensão reduzida da amostra e/ou da metodologia usada. Em virtude disso, esta secção explora fundamentalmente o caso da AN e, sempre que se justifique, também a BN que é o segundo DA mais bem estudado. Uma vez que a(s) causa(s) da doença não estão, ainda, estabelecidas, serão mencionados, apenas, os resultados publicados na literatura consultada e que, à data de realização do presente trabalho, parecem reunir um maior consenso por parte da comunidade científica.

De uma perspectiva histórica, os estudos genéticos começaram por compreender, apenas, estudos familiares e estudos de gémeos. Com o advento da genómica, as ferramentas de genética molecular possibilitaram a caracterização do genoma, a localização e a identificação de genes, e a identificação e caracterização de variantes genéticas. Posteriormente, o conceito de epigenoma representou não só uma oportunidade para alargar o espectro das possíveis causas dos DAs como, também, um desafio para a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a este grupo de doenças complexas.

3.4.1 Estudos familiares

A natureza familiar da AN está bem estabelecida. Os parentes de primeiro grau de indivíduos com AN têm aproximadamente 10 vezes mais risco ao longo da vida de adoecer com um DA do que parentes de indivíduos não afetados (3). No entanto, a contribuição de causas ambientais para o efeito da agregação familiar não está excluída. Contudo, os estudos com gémeos sugerem, consistentemente, uma base genética para a agregação familiar com um risco estimado entre, aproximadamente, 40% e 70% (2, 3).

3.4.2 Estudos de ligação

Os estudos de ligação visam a identificação de regiões genómicas com maior probabilidade de conterem genes associados a um distúrbio ou característica específica. A

ligação genética representa a probabilidade de sequências génicas serem herdadas conjuntamente em virtude de se encontrarem em locais próximos numa região específica do cromossoma. O estudo é realizado em amostras de indivíduos relacionados e compreende, geralmente, várias gerações (3). Estes estudos não requerem, assim, o conhecimento prévio dos genes envolvidos na etiologia da doença. Metodologicamente, marcadores genéticos distribuídos ao longo do genoma são genotipados e o resultado obtido é usado na identificação da região cromossómica que contém o gene. Esta abordagem permite, assim, reduzir a localização genómica (o genoma corresponde a ~3 biliões de pares de bases) a uma ou mais regiões cromossómicas (10-30 milhões de pares de bases), tendo em vista ou um refinamento posterior quanto à localização do gene ou a sua caracterização (1).

A probabilidade de dois genes estarem ligados, isto é, serem herdados em virtude da sua relativa proximidade é geralmente estimada pelo valor de LOD (*logarithm of an odd ratio*) score. Um valor de LOD score igual ou superior a 3,6 é, geralmente, considerado com significância estatística, isto é, a proximidade entre os dois genes implica que eles são herdados em conjunto. No caso do seu valor ser 3 significa, neste caso, que a probabilidade de dois genes estarem ligados é de 1000:1 face à situação de ausência de ligação (11).

Poucos estudos de ligação foram realizados nos DAs. Os únicos estudos com significado estatístico e, por isso, sugestivos de ligação foram observados em doentes com o subtipo restritivo de AN com LOD scores de 3,03 e 3,45 no gene *DYX8* (1p36.34). Uma das principais limitações da análise de ligação é a impossibilidade em obter uma redução da região cromossómica compatível com um número experimentalmente viável de genes. Esta limitação pode ser ultrapassada pelo mapeamento fino da região genómica identifica nos estudos de ligação (1). E de facto, o mapeamento fino da região genómica do cromossoma 1 permitiu a identificação dos genes receptor da serotonina *HTR1D* (1p36.12) e do receptor delta 1 opioide *OPRD1* (1p35.3) (1, 3).

3.4.3 Estudos de associação

Os estudos de associação de genes candidatos resultam, geralmente, da hipótese de associação de genes específicos a uma doença. Essa hipótese é formulada na sequência dos resultados obtidos em estudos preliminares (3). Também nos DAs, o objetivo da sua aplicação é a identificação de regiões genómicas que integrem genes de suscetibilidade ou

genes protetores para estas doenças (1). Nos distúrbios psiquiátricos em que a etiologia não é, ainda, clara, os estudos de genes candidatos procuram especular a relevância fisiopatológica de genes já conhecidos e, por isso, a probabilidade de deteção de uma associação verdadeira é, teoricamente, menor (3). No caso dos DAs, e especificamente no caso da AN, os estudos efetuados foram realizados, geralmente, em amostras com dimensão reduzida, não sendo conhecidos estudos que repliquem a mesma abordagem em amostras com maior dimensão (3). Globalmente, os estudos efetuados até à presente data não permitiram identificar uma associação evidente entre um polimorfismo de nucleótido único (SNP) e os DAs. No entanto, estudos recentes sugerem uma base molecular compartilhada para a AN e a obesidade (5).

Os estudos de associação global do genoma (GWAS), exploram a associação de SNPs a doenças específicas sendo, por isso, uma ferramenta útil para investigar a arquitetura genética de doenças humanas (3, 5). Um conjunto de variantes genéticas é rastreado no genoma de diferentes indivíduos para determinar se alguma variante está associada com uma característica específica. Esta abordagem não requer uma hipótese inicial e pode investigar centenas de milhares de SNPs em milhares de indivíduos participantes do estudo, quer doentes quer controlos (1, 2). No caso da AN, os GWASs sugerem que a doença é poligénica (3, 5). Foi identificada uma associação significativa com uma variante genética no início gene do fator 1 de células B (*EBF1*, 5q33.3) (rs929626). A inativação do gene *EBF1* em ratinhos origina a diminuição da leptina circulante e esta observação é concordante com os níveis muito baixos de leptina observados em doentes com AN (5). É, assim, provável que esta variante desregule a via de sinalização da leptina envolvendo-a, desse modo, na fisiopatologia da AN (3). Ainda no caso da AN, o SNP rs4622308 localizado próximo do gene *ERBB3* (12q13.2), foi significativamente associado à AN (5, 1). O produto deste gene participa em várias vias de sinalização celular (3, 10). A confirmação destas observações em amostras de maior dimensão, e a realização de estudos de expressão e estudos de função serão cruciais para compreender melhor o envolvimento destes dois genes na etiologia da AN (5). Correlações genéticas negativas e significativas foram obtidas entre AN e, por exemplo, o índice de massa corporal (IMC), a sensibilidade à insulina e o metabolismo da glicose (2, 3). Estas observações sugerem a reconceptualização da AN como doença psiquiátrica e metabólica (2). Embora os GWASs sejam considerados ferramentas adequadas para a

identificação de variantes genéticas no genoma, existe uma limitação intrínseca que se prende com o facto desta metodologia não ser especialmente útil para a deteção de variantes genéticas que não contribuem significativamente para a manifestação da doença (3). Globalmente, os estudos GWASs realizados até à presente data sugerem não só que a AN é poligénica como também deverá estar associada a muitas variantes genéticas de pequeno efeito. (3).

3.4.4 Sequenciação de nova geração

A sequenciação do exoma completo e/ou genoma em indivíduos pertencentes a duas famílias numerosas com várias gerações e com indivíduos afetados para vários DAs permitiu a identificação de dois genes associados aos DAs: o gene do receptor- α relacionado com estrogénio, *ESRRA* (11q13.1), e o genes da histona desacetilase 4, *HDAC4* (2q37.3). O gene *HDAC4* é expresso no cérebro, incluindo a região cortical implicada nos DAs, e a respetiva proteína tem um papel importante na plasticidade sináptica. Esta observação sugere que a diminuição da atividade da proteína ESRRA poderá contribuir para a disfunção neuronal em doentes com DAs (5). A proteína ESRRA atua como um fator de transcrição e conjuntamente com outras proteínas regula a expressão de muitos genes envolvidos na biogénese da mitocôndria e no metabolismo energético mitocondrial (13) implicando-a, por isso, no processo de plasticidade neuronal. Adicionalmente, a proteína ESRRA induz a expressão de monoamina oxidase A e B. Esta observação sugere o seu envolvimento no metabolismo de neurotransmissores monoamínicos como a serotonina e a dopamina. Além disso, baseado no facto da elevada prevalência das DAs na população feminina sugerir a implicação das vias de sinalização mediadas por estrogénio na etiopatologia destas doenças, é possível que alterações na atividade de ESRRA-HDAC4 conduzam a um aumento do risco para DAs (5). Estes dois genes são considerados, atualmente, gene candidatos promissores e o seu estudo deverá continuar no futuro.

3.4.5 Epigenética

A epigenética investiga alterações que não afetam a sequência de nucleótidos na

molécula do DNA, mas afetam a expressão dos genes, de forma estável, podendo ser, ou não, transmitidas à descendência (2-4). Os mecanismos epigenéticos incluem a modificação do DNA, a modificação de histonas, e o RNA não codificante. As modificações do DNA são de natureza química como, por exemplo, a metilação. As modificações químicas das histonas, tal como as do DNA, alteram o estado de condensação da cromatina influenciando, desse modo, a acessibilidade de segmentos específicos de DNA à maquinaria da transcrição. Os RNAs não codificantes incluem micro-RNAs (miRNAs) e RNAs de interferência (siRNAs). Estes RNAs atuam na regulação da expressão génica ao nível transcripcional (silenciamento transcripcional) ou ao nível pós-transcripcional (degradação prematura de transcritos ou silenciamento póstranscripcional) (2, 3). Deste modo, os mecanismos epigenéticos permitem compreender a influência do ambiente sobre a expressão génica, ou seja, a dinâmica da interação gene-ambiente (3, 5). Contudo, ao contrário das sequências génicas, as modificações epigenéticas são dinâmicas e podem apresentar uma especificidade dependente do tipo celular, da fase de desenvolvimento e da idade e, ainda, de numerosos fatores exógenos, incluindo dieta, medicação e stress (2-4). A estratégia do estudo e a análise estatística dos resultados deverão, por isso, salvaguardar a eventual influência destes fatores (2).

Várias características dos DAs, tais como a maior prevalência em mulheres, o risco aumentado observado em adolescentes e adultos jovens, a discordância entre gémeos monozigóticos, e fatores ambientais indutores de stress sugerem um potencial contribuição de fatores epigenéticos para o desenvolvimento destas doenças (2). A sua investigação tem sido efetuada através de três abordagens: comparação dos níveis de metilação global entre doentes e controlos saudáveis, análise da metilação do DNA em genes candidatos específicos e uma abordagem de larga escala (2).

3.4.5.1 Metilação global do DNA

Nos DAs, a maioria dos estudos epigenéticos realizados até ao presente momento quantificaram o nível de metilação global do DNA. Tal como referido anteriormente, a metilação pode alterar a atividade de um segmento de DNA sem, contudo, afetar a sua sequência. Por exemplo, no caso de regiões promotoras, a metilação do seu DNA reprime,

normalmente, a transcrição dos respetivos genes (3). Deste modo, a quantificação da metilação global representa a quantificação do nível de 5-metilcitosina na totalidade do DNA, não sendo analisados, neste caso, segmentos ou genes específicos. Os resultados desses estudos revelaram-se são inconclusivos na medida em que não foi possível identificar um padrão claramente associado à AN (2).

3.4.5.2 Estudo de genes candidatos

No caso da AN foram realizados 11 estudos que investigaram genes relacionados com a transmissão sináptica, resposta ao stress mediada pelo retículo endoplasmático, sinalização mediada por hormonas de crescimento, sistema canabinóide, sinalização mediada pela dopamina, serotonina e oxitocina, e regulação do apetite (2). Contudo, não foram identificados, de forma robusta, genes candidatos diferenciadamente metilados. A inexistência de confirmação na maioria dos casos, a dimensão reduzidas das amostras e a inconsistência dos resultados obtidos, designadamente no caso dos genes envolvidos na sinalização da dopamina, não permitiram extrair conclusões definitivas (2).

3.4.5.3 Estudos de associação global do epigenoma

Os estudos de associação global do epigenoma permitem não só determinar o nível global de metilação do DNA, como também identificar o padrão de metilação de regiões específicas. Neste último caso, os resultados poderão revelar informação epigenética relacionada com genes específicos (3). Em mulheres com AN, os estudos conduziram à identificação de regiões hipermetiladas, com 11 genes associados a processos diversos, incluindo a acetilação de histonas, modificação de RNA, armazenamento de colesterol e transporte lipídico, e sinalização do glutamato e da dopamina (2, 3, 5). Globalmente, estas observações sugerem que o desenvolvimento dos DAs pode envolver alterações do padrão de metilação do DNA e influenciar uma ampla variedade de respostas que incluem a regulação comportamental/afetiva, sensibilidade a défices nutricionais, e manutenção do peso corporal. (5). Embora os resultados destes estudos sejam promissores, a maioria deles foi realizado em amostras com dimensão reduzida e os seus resultados carecem de confirmação (2, 3, 5). Para além disso, o facto das alterações epigenéticas serem específicas do amostra estudada (amostra geralmente do sexo feminino) e estarem, normalmente,

associadas a fatores extrínsecos, tais como medicamentos, exercício, dieta, fatores psicológicos e fatores socioeconómicos, condiciona não só eventuais extrapolações, como também explicará alguns resultados contraditórios observados na literatura (2, 3). Estudos adicionais serão, por isso, necessários para estabelecer conclusões mais definitivas.

3.4.6 Estudos de expressão génica

A expressão génica é o processo através do qual a informação de regiões específicas do DNA é usada para produzir o RNA mensageiro (mRNA) ou RNAs funcionais (3). Aparentemente, a maior parte dos estudos de expressão génica efetuados nos DAs tiveram por objetivo a quantificação do nível do mRNA. Em doentes com AN foram observadas alterações no nível de expressão do mRNA dos genes codificantes para o peptídeo natriurético atrial ANP (1p36.22), o receptor canabinóide 1 CB1 (6q15), a pro-opiomelanocortina POMC (2p23.3), o transportador de dopamina DAT (5p15.33), o receptor D2 de dopamina DRD2 (11q23.2), o receptor da leptina LEPR (1p31.3), o fator de necrose tumoral α TNF (6p21.33) e a interleucina 6 IL-6 (7p15.3) (3, 13).

3.4.7 Estudos de interação gene-gene

O fenótipo clínico é representado pelos sinais e sintomas da doença e resulta da complexa interação entre os produtos de genes específicos e, ainda, da interação de fatores ambientais com esses genes (3). Neste âmbito foram obtidas evidências para uma interação sinérgica gene-gene entre o gene codificante do fator de crescimento neuronal, *NGFB* (1p13.2) e variantes genéticas específicas do gene do receptor neurotrófico da proteína cinase 3, *NTRK3* (15q25.3). Outras interações incluem a relação entre o gene da monoamina oxidase A, *MAOA* (Xp11.3), e o gene do transportador de serotonina, *SERT* (17q11.2). A enzima MAOA participa no catabolismo de neurotransmissores tais como a dopamina, norepinefrina e serotonina. Uma variante do gene *SERT*, sem efeito individual aparente, parece ser transmitida preferencialmente a crianças com AN que também herdaram a variante genética mais frequente do gene *MAOA*. Neste caso foi observado um risco oito vezes superior de desenvolvimento da doença face à situação em que apenas a variante do gene *MAOA* está presente (3, 13).

3.4.8 Genómica nutricional

A área científica da genómica nutricional inclui a nutrigenómica e a nutrigenética. A nutrigenómica estuda a influência de nutrientes, incluindo macronutrientes e micronutrientes,

na expressão do genoma. Estes estudos de larga escala requerem a inclusão de um número elevado de amostras de indivíduos saudáveis e indivíduos doentes e, até à data, tanto quanto é do nosso conhecimento, não foram, ainda, aplicados ao estudo dos DAs (3, 5, 6). A Nutrigenética estuda o efeito da variação genética sobre a resposta do indivíduo a nutrientes específicos da dieta. Os estudos nutrigenéticos até agora realizados revelaram que variantes genéticas específicas do gene da epóxido hidrolase 2, *EPHX2* (8p21.2), aumentam o risco para a AN (3, 13). Neste contexto é de salientar que: (i) formas mutadas da proteína EPHX2 têm sido associadas à hipercolesterolemia familiar (13); (ii) em doentes com AN, foi observado, após a refeição, um aumento de moléculas pró-inflamatórias que não é detetado em indivíduos saudáveis e que depende do nível de atividade da enzima EPHX2 e do nível de ácidos gordos polinsaturados da dieta. Por isso, tem sido sugerida uma base genética para a relação entre a resposta fisiológica a certos nutrientes e a susceptibilidade ao desenvolvimento da doença (3).

3.5 Suplementação nutricional

Nos doentes com DAs são frequentemente observadas alterações em consequência de comportamentos purgativos, como o vômito auto-induzido e o uso incorreto de laxantes, diuréticos ou enemas. A sua correção pode exigir uma suplementação de emergência de micronutrientes (vitaminas e minerais, tais como cálcio, ferro e zinco) para repor o equilíbrio. Para além disso, estes doentes normalmente apresentam um perfil atípico de ácidos gordos com níveis normais de ácidos gordos essenciais e níveis reduzidos de ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa, incluindo o ómega 3, em virtude da ingestão alimentar inadequada. Este ácido gordo participa no processo de formação de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos que são mediadores moleculares do processo inflamatório. O défice em ómega 3 pode, assim, ser uma resposta compensatória à inflamação e ao stress oxidativo observados em doentes com DAs. Portanto, postula-se que a suplementação de ácidos gordos polinsaturados pode atuar na prevenção de danos neuronais observados no contexto da doença mental, nomeadamente através da estabilização da membrana celular (12).

4. Discussão

Os estudos genéticos nos DAs encontram-se, ainda, numa fase inicial, mesmo no caso da variante mais investigada até à data, a AN (1). A investigação das causas genéticas destas doenças tem acompanhado os avanços científicos e tecnológicos registados na área da genética (2-4). Nessa medida, as abordagens de estudo são muito diversas, incluindo estudos familiares, estudos de ligação, estudos de associação, estudos de sequenciação de nova geração, estudos epigenéticos, estudos de expressão génica e estudos de interação gene-gene. Globalmente, os resultados desses estudos sugerem o envolvimento de fatores genéticos e epigenéticos no desenvolvimento dos DAs. Contudo, até à presente data nenhum fator causal foi conclusivamente identificado, nem mesmo na AN (1, 4). Para além dos resultados de muitos estudos não terem sido, ainda, confirmados em amostras independentes, a dimensão reduzida das amostras estudadas bem como a sua heterogeneidade subfenotípica são razões que têm sido sugeridas para explicar os resultados contraditórios e/ou inconclusivos descritos na literatura (1). De facto, em praticamente todas as metodologias utilizadas na identificação de genes ou variantes genéticas associadas aos DAs, uma limitação comum é o tamanho da amostra para alcançar o poder estatístico necessário à obtenção de resultados significativos. Neste âmbito, salienta-se o facto da heterogeneidade subfenotípica, que é uma característica intrínseca destas doenças, ter-se revelado um obstáculo para a inclusão, nos estudos, de amostras com a dimensão e homogeneidade adequadas (5). Esta observação salienta a importância da revisão periódica dos critérios de diagnóstico para a integração na prática clínica de critérios que conduzam a um melhor diferenciação entre os subfenótipos clínicos (5).

Uma vez que não existem muitos estudos e as causas genéticas não são, ainda, claramente conhecidas, a continuidade da investigação será importante para permitir, no futuro, uma atuação mais personalizada ao nível do diagnóstico, prevenção e tratamento destas doenças (8).

Dado que os DAs são doenças etiopatologicamente multifatoriais, vários fatores tais como a idade, sexo, dieta, suplementos alimentares, fármacos, tabaco, consumo de álcool, alterações do peso corporal e alterações hormonais podem influenciar o grau severidade da doença (1). O estudo da influência destes fatores sobre a expressão genética é, por isso, uma

área de investigação de grande interesse, nomeadamente na área da epigenética. No caso da AN, os estudos epigenéticos englobaram três abordagens: comparação dos níveis de metilação global entre doentes e controlos saudáveis, análise da metilação do DNA em genes candidatos específicos e uma abordagem de larga escala. No entanto, a maioria dos estudos foram realizados transversalmente e em amostras de indivíduos do sexo feminino analisando, apenas, o nível de metilação global do DNA (2, 3, 5). Os doentes com DAs apresentam, frequentemente, aumento do nível de cortisol e uma diminuição do nível de hormonas sexuais. Estes tipos de hormonas podem ligar-se, diretamente, a regiões (promotoras, silenciadoras e potenciadoras) de genes específicos influenciando diretamente a sua expressão e, subsequentemente, o nível das proteínas codificadas por esses genes (1). Esta observação reforça a importância da continuidade dos estudos epigenéticos. Na epigenética, a questão da especificidade da expressão génica em função do tipo de tecido, por exemplo tecido adiposo vs. tecido neuronal, pode condicionar a análise comparativa dos resultados e, conduzir a uma variabilidade aparente dos resultados experimentais. Funções celulares diferentes, tal como acontece em diferentes tecidos, requerem a mobilização e orquestração de um conjunto específico de proteínas na respetiva via celular. A produção dessas proteínas poderá estar sujeita a mecanismos de controlo epigenético específicos que conduzam a uma expressão diferenciada (1). Para além disso, o facto da desregulação epigenética tanto poder ser a causa como a consequência da doença dificulta a atribuição da causa dos DAs a alterações epigenéticas (1). Os resultados mais promissores que surgiram na sequência de estudos epigenéticos recentes requerem confirmação adicional em amostras com mais indivíduos afetados para a AN (5). Assim, a investigação dos fatores epigenéticos associados aos DAs é promissora mas, presentemente, muito limitada, e todos os aspetos anteriormente mencionados deverão ser cuidadosamente ponderados na delimitação dos estudos de investigação a realizar no futuro (2).

Face aos estudos genéticos e epigenéticos até agora publicados, é expectável a sua aplicação, no futuro, também à BN e ao TCAP, bem como a populações específicas de indivíduos, designadamente para esclarecer os fatores de risco dos DAs em homens (5).

Também é sabido que um comportamento alimentar saudável é alcançado através de equilíbrio dinâmico entre as vias reguladoras da fome e da motivação / recompensa. Todavia,

apesar da desregulação dessas vias ser observada em doentes com DAs, ainda não é claro se essas alterações representam a causa ou a consequência destas doenças. Estudos mais recentes sugerem uma base molecular compartilhada para a AN e a obesidade (5). Esta hipótese deverá, por isso, continuar ser investigada no futuro.

Considerando a neurobiologia dos DAs e o comportamento alimentar dos doentes, e sabendo que o tratamento farmacológico é, apenas, parcialmente eficaz neste caso, estratégias terapêuticas adicionais destinadas a reverter tanto a disfunção biológica quanto os déficits inerentes a dietas erráticas poderão ser úteis para controlar o desenvolvimento da doença. Por outro lado, dada a necessidade de tratamentos de longo prazo em virtude da natureza da doença que é caracterizada por problemas no controlo dos impulsos subjacentes a comportamentos alimentares, a aceitação e a adesão ao tratamentos são fundamentais. Neste âmbito, é possível que a administração de suplementos alimentares naturais facilite a adesão ao tratamento (12).

5. Conclusão

Apesar da quase totalidade da informação recolhida a partir das fontes bibliográficas consultadas para a elaboração do presente trabalho não ser conclusiva quanto às causas genéticas, já é considerado um grande avanço no ramo da genética contemporânea o estado atual dos conhecimentos sobre a fisiopatologia molecular destas doenças. Uma limitação substancial para o esclarecimento da etiologia dos DAs é a escassez de estudos genéticos para a BN e o TCAP. No entanto, os estudos até agora realizados, fundamentalmente na AN apoiam, claramente, a importância de fatores genéticos e epigenéticos na fisiopatologia dos DAs. Globalmente, um melhor entendimento dos fatores biológicos, intrínsecos e extrínsecos, que influenciam as escolhas alimentares será fundamental para melhorar o esclarecimento dos doentes sobre a sua doença, promover uma maior consciencialização sobre si mesmo e, subsequentemente, facilitar a aceitação e adesão do doente ao tratamento.

6. Referências bibliográficas

1. Bulik CM, Slof-Op't Landt MCT, van Furth EF, Sullivan PF. The Genetics of Anorexia Nervosa. *Annu Rev Nutr.* 2007;27(1):263–75.
2. Hübel C, Marzi SJ, Breen G, Bulik CM. Europe PMC Funders Group Epigenetics in eating disorders : a systematic review. *Mol Psychiatry* 2019;24(6):901–15.
3. Himmerich H, Bentley J, Kan C, Treasure J. Genetic risk factors for eating disorders : na update and insights into pathophysiology. *Ther Adv Psychopharmacol* 2019b;1–20.
4. Trace SE, Baker JH, Peñas-Lledó E, Bulik CM. The Genetics of Eating Disorders. *Annu Rev Clin Psychol.* 2013;9(1):589–620.
5. Mayhew AJ, Pigeyre M, Couturier J, Meyre D. An Evolutionary Genetic Perspective of Eating Disorders. *Neuroendocrinology.* 2018;106(3):292–306.
6. Panduro A, Rivera-Iñiguez I, Sepulveda-Villegas M, Roman S. Genes, emotions and gut microbiota: The next frontier for the gastroenterologist. *World J Gastroenterol.* 2017;23(17):3030–42.
7. Bulik CM, Blake L, Austin J. Genetics of Eating Disorders: What the Clinician Needs to Know. *Psychiatr Clin North Am.* 2019;42(1):59–73.
8. Woodside DB. Contemporary views on the genetic of anorexia nervosa 2016. 2017;1–19 Elsevier.
9. Leng G, Adan RAH, Belot M, Brunstrom JM, De Graaf K, Dickson SL, et al. The determinants of food choice. *Proc Nutr Soc.* 2017;76(3):316–27.
10. Duncan L, Yilmaz Z, Gaspar H, Walters R, Goldstein J, Anttila V et al. Significant locus and metabolic genetic correlations revealed in genome-wide association study of anorexia nervosa. *Am J Psychiatry.* 2017;174(9):850–8.
11. Lander, E., Kruglyak, L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet* 11, 241–247 (1995)
12. Díaz-Marsá M, Alberdi-Páramo I, Niell-Galmés L. Nutritional supplements in eating disorders. *Actas Esp Psiquiatr.* 2017;45:26–36.

13. GeneCards, www.genecards.or

7. Agradecimentos:

Agradeço à Professora Maria Gil Ribeiro por me ter orientado nesta monografia e pela disponibilidade prestada ao longo de todo o percurso dela;

À Universidade Fernando Pessoa pela oportunidade fornecida da minha formação;

Todas as pessoas, com especial destaque a minha família e amigos mais próximos, que direta ou indiretamente ajudaram na realização desta monografia.