



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Bruno Fonseca Nunes

Variantes genéticas do MC4R: implicações na fisiopatologia da obesidade

Florianópolis

2024

Bruno Fonseca Nunes

Variantes genéticas do *MC4r*: implicações na fisiopatologia da obesidade

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Fabíola Branco Filippin Monteiro, Dr^a

Florianópolis

2024

Nunes, Bruno Fonseca

Variantes genéticas do MC4R : implicações na
fisiopatologia da obesidade / Bruno Fonseca Nunes ;
orientadora, Fabíola Branco Filippin Monteiro, 2024.
113 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-
Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. obesidade. 3. gene. 4. variantes. 5.
MC4R. I. Monteiro, Fabíola Branco Filippin. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Farmácia. III. Título.

Bruno Fonseca Nunes

Variantes genéticas do *MC4r*: implicações na fisiopatologia da obesidade

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 27 de maio de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

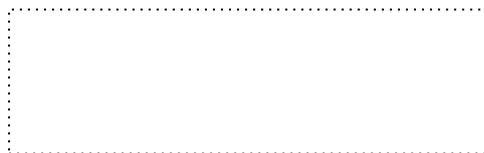
Prof^ª Heloisa Pamplona Cunha, Dr^ª
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª Juliana Dal-Ri Lidenau, Dr^ª
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Farmácia.



Prof^ª Dr^ª Thaís Cristine Marques Sincero
Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof^ª Dr^ª Fabíola Branco Filippin Monteiro
Orientadora

Florianópolis, 2024.

Dedico este trabalho aos meus pais que me deram a vida, aos meus familiares e amigos que de alguma forma contribuíram para que chegasse até aqui, e a minha orientadora por toda dedicação e apoio.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a agradeço a Deus, pela graça da vida, por ensinamentos tão intrínsecos que permitem que passe por todos os percalços da vida que surgiram até o momento.

A meus familiares, em especial a meus pais que jamais desistiram de me fornecer uma educação de qualidade, valorizando e confiando sempre em meu desempenho mesmo nos momentos em que tudo parecia dar errado.

Aos amigos que fiz durante a graduação, e que continuam me apoiando sempre, em especial à Ana Carolina Ibarra dos Santos, Ana Leticia Müller e Raíssa Meneguzzi, que foram um grande suporte e grandes presentes que a vida e a Universidade me deram, jamais esquecerei da nossa amizade e o quanto vocês estão presentes em minha vida.

A meus colegas do Laboratório de Imunobiologia do Tecido Adiposo - LAITA, em especial à Dr^a. Carolina Dumke de Siqueira e Dr^a. Leticia de Oliveira Souza Bratti, além dos colegas do Grupo de Estudos de Interações entre Micro e Macromoléculas, em Especial à Mariana Vernaschi por todas nossas manhãs de café e descontração. Um agradecimento mais que especial à grande Gênia Contemporânea, Dra. Maria Luiza Carneiro Buchele, que mesmo distante durante o desenvolvimento deste trabalho, esteve presente nos melhores e piores momentos virtualmente dando ideias e momentos de risadas.

Agradeço profundamente à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Fabíola Branco Filippin Monteiro, pela sua orientação, apoio e incentivo ao longo deste trabalho. A sua experiência, paciência e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação, ainda, pela sua disponibilidade para discutir ideias, esclarecer dúvidas e oferecer orientações valiosas em cada fase desta dissertação.

Aos membros da banca gostaria de expressar minha profunda gratidão pelo tempo, conhecimento e orientação compartilhados.

A Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-graduação em Farmácia pela oportunidade de aprendizado e engrandecimento pessoal. Às agências de Fomento (CAPES, CNPq) pelo apoio financeiro para os projetos e bolsa.

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta.” (XAVIER, Francisco Cândido)

RESUMO

O MC4R se destaca dentro da família de receptores acoplados à proteína G como um receptor transmembranar crucial. Após ativação pelo seu ligante, este receptor inicia uma cascata de sinalização que modula principalmente a expressão de neuropeptídeos envolvidos na regulação do comportamento alimentar e da fome em indivíduos. Consequentemente, a obesidade representa um desafio complexo, impulsionado pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo decorrente da desregulação nas vias de sinalização da fome e saciedade. Vários fatores contribuem para essa desregulação, resultando em uma série de complicações clínicas. Estudos genéticos identificaram variantes no gene *MC4r* como importantes contribuintes para a obesidade monogênica em humanos. Nossa pesquisa teve como objetivo investigar abrangentemente essas variantes genéticas dentro do *MC4r* utilizando conjuntos de dados disponíveis publicamente, com um foco particular em variantes com interpretações conflitantes de patogenicidade e significância incerta. Realizamos análises para prever os efeitos fenotípicos de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), utilizando análises bioquímicas e estruturais, além de avaliar seu impacto na estabilidade proteica. Das 84 variantes encontradas na plataforma ClinVar, 15 foram consideradas deletérias pelo PredictSNP, e das 350 encontradas no dbSNP, 10 foram previstas para conter efeitos deletérios. Para essas 25 variantes, foram conduzidas análises para determinar seus efeitos na proteína (conservação evolutiva, estabilidade, efeitos estruturais e funcionais) usando plataformas distintas. Por fim, integramos nossas descobertas em um modelo que elucidada a interação entre MC4R e seu agonista, Setmelanotida. Através desta análise, identificamos não apenas os aminoácidos específicos para a ligação de Setmelanotida à proteína, mas também lançamos luz sobre a farmacogenômica da resposta à Setmelanotida no contexto de diferentes variantes do MC4R. Este estudo contribui significativamente para nossa compreensão de abordagens de medicina personalizada na abordagem da obesidade relacionada ao MC4R, abrindo caminho para intervenções terapêuticas personalizadas baseadas em perfis genéticos individuais.

Palavras-chave: obesidade; MC4R; receptor; variantes; genes.

ABSTRACT

MC4R stands out within the family of G protein-coupled receptors as a crucial transmembrane receptor. Upon activation by its ligand, this receptor initiates a signalling cascade that primarily modulates the expression of neuropeptides involved in regulating feeding behaviour and hunger in individuals. Consequently, obesity poses a complex challenge, driven by excessive accumulation of adipose tissue stemming from dysregulation in hunger and satiety signalling pathways. Various factors contribute to this dysregulation, leading to a range of clinical complications. Genetic studies have pinpointed variants in the *MC4r* gene as significant contributors to monogenic obesity in humans. Our research aimed to comprehensively investigate these genetic variants within *MC4r* using publicly available datasets, with a particular focus on variants with conflicting interpretations of pathogenicity and uncertain significance. We conducted analyses to predict the phenotypic effects of single nucleotide polymorphisms (SNPs), employing biochemical and structural analyses as well as assessing their impact on protein stability. Out of the 84 variants found in the ClinVar platform, 15 were considered deleterious by PredictSNP, and out of the 350 found in dbSNP, 10 were predicted to contain deleterious effects. For these 25 variants, analyses were conducted to determine their effects on the protein (evolutionary conservation, stability, structural, and functional effects) using distinct platforms. Finally, we integrated our findings into a model that elucidates the interaction between MC4R and its receptor agonist, Setmelanotide. Through this analysis, we not only identified the specific amino acids for the binding of Setmelanotide to the protein but also shed light on the pharmacogenomics of Setmelanotide response in the context of different MC4R variants. This study contributes significantly to our understanding of personalized medicine approaches in addressing MC4R-related obesity, paving the way for tailored therapeutic interventions based on individual genetic profiles.

Keywords: obesity; MC4R; receptor; variants; genes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura tridimensional do receptor MC4R (receptor de melanocortina 4) mostrando a organização em hélice alfa e folhas beta, obtida por modelagem de homologia.....	17
Figura 2 – Interação do MC4R com seu agonista α -MSH	18
Figura 3 – Ativação do receptor pelo agonista natural α -MSH.....	19
Figura 4 - Estruturas químicas dos medicamentos	22
Figura 5 – Estrutura da setmelanotida	23
Figura 6 – Distribuição das mutações encontradas no ClinVar em porcentagem.	30
Figura 7 – Distribuição das mutações encontradas no dbSNP em porcentagem.....	31
Figura 8 – Diagrama de Venn ilustrando os achados comuns das duas plataformas.	31
Figura 9 – Gráficos representando porcentagem (%) dos aminoácidos presentes no tipo-selvagem e mutado, na plataforma ClinVar.	37
Figura 10 – Gráficos representando porcentagem (%) dos aminoácidos presentes no tipo-selvagem e mutado, na plataforma dbSNP.....	39
Figura 11 – Diagrama SNAKE do gene <i>MC4r</i> com variantes das duas plataformas.....	40
Figura 12 – Close das variantes da plataforma ClinVar.....	42
Figura 13 – Close das variantes da plataforma dbSNP	44
Figura 14 – Informações obtidas no ConSurf sobre a proteína MC4R.	49
Figura 15 – Estrutura do MC4R, gerado pelo identificador 6W25	51
Figura 16 – Qualidade do modelo gerado	52
Figura 17 – PROCHECK do modelo gerado.....	52
Figura 18 – Representação das interações entre o ligante e a proteína	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados extraídos da plataforma ClinVar utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “ <i>missense</i> ”, “ <i>patogênico</i> ” e “ <i>provavelmente patogênico</i> ”	32
Tabela 2 – Dados extraídos da plataforma ClinVar utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “ <i>missense</i> ”, “ <i>benigno</i> ” e “ <i>provavelmente benigno</i> ”	33
Tabela 3 – Dados extraídos da plataforma dbSNP utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “ <i>missense</i> ”, “ <i>patogênico</i> ” e “ <i>provavelmente patogênico</i> ”	34
Tabela 4 – Dados extraídos da plataforma dbSNP utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “ <i>missense</i> ” e “ <i>benigno</i> ”	35
Tabela 5 – Dados da quantidade de aminoácidos em número absoluto e relativo em tipo-selvagem e mutado na plataforma ClinVar	36
Tabela 6 – Dados da quantidade de aminoácidos em número absoluto e relativo em tipo-selvagem e mutado na plataforma dbSNP	38
Tabela 7 – Informações obtidas do relatório gerado pela plataforma HOPE das variantes do Clinvar	41
Tabela 8 – Informações obtidas do relatório gerado pela plataforma HOPE das variantes do dbSNP	43
Tabela 9 – Score e impacto previstos pelo MutPred2 na patogenicidade das variantes do Clinvar	45
Tabela 10 – Score e impacto previstos pelo MutPred2 na patogenicidade das variantes do dbSNP	46
Tabela 11 – Informações obtidas nos relatórios gerados pelo I-Mutant2.0 e MuPro, usando as variantes do ClinVar	47
Tabela 12 – Informações obtidas nos relatórios gerados pelo I-Mutant2.0 e MuPro, usando as variantes do dbSNP.	48
Tabela 13 – Informações obtidas na análise do ConSurf, usando as variantes do ClinVar e dbSNP	49
Tabela 14 – Perfil ADMET da setmelanotida	53
Tabela 15 – Variantes identificadas como importantes pelas análises	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A (Ala)	Alanina
AgRP	Peptídeo relacionado ao Agouti
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
C (Cys)	Cisteína
D (Asp)	Ácido Aspártico
E (Glu)	Ácido Glutâmico
F (Phe)	Fenilalanina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
G (Gly)	Glicina
GWAS	Estudos de associação ampla do genoma
H (His)	Histidina
I (Ile)	Isoleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
K (Lys)	Lisina
L (Leu)	Leucina
LEPR	Receptor de Leptina
M (Met)	Metionina
MC4R	Receptor de Melanocortina 4
N (Asn)	Asparagina
P (Pro)	Prolina
PCSK1	Pró-proteína convertase 1
POMC	Pró-opiomelanocortina
Q (Gln)	Glutamina
R (Arg)	Arginina
S (Ser)	Serina
SNC	Sistema Nervoso Central
T (Thr)	Treonina
V (Val)	Valina
W (Trp)	Triptofano
Y (Tyr)	Tirosina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 O RECEPTOR MC4R	16
1.1.1 Mecanismo de Sinalização	17
1.1.2 O papel das mutações genéticas	20
1.1.2.1 <i>Relação do receptor com a hiperfagia</i>	20
1.2 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS PARA OBESIDADE	21
1.2.1 A Setmelanotida	22
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 METODOLOGIA	26
3.1 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS	26
3.2 FERRAMENTAS DE PREDIÇÃO DE SUBSTITUIÇÃO DE AMINOÁCIDOS	26
3.3 PREDIÇÃO DOS EFEITOS ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS	26
3.4 DETERMINAÇÃO DO IMPACTO NA ESTABILIDADE DA PROTEÍNA	27
3.5 CONSERVAÇÃO EVOLUTIVA	27
3.6 DOCKING MOLECULAR	27
3.6.1 Análise da qualidade estrutural da proteína e validação dos modelos	28
3.6.2 Análise do ligante (setmelanotida)	28
4 RESULTADOS	30
4.1 INFORMAÇÕES GERAIS	30
4.2 SNPS NO GENE <i>MC4r</i>	30
4.3 ANÁLISE DOS DADOS DAS PLATAFORMAS	32
4.3.1 ClinVar	32
4.3.2 dbSNP	33
4.4 ANÁLISE DAS SUBSTITUIÇÕES DOS AMINOÁCIDOS NAS PLATAFORMAS	35
4.4.1 Análise dos aminoácidos da plataforma ClinVar	36
4.4.2 Análise dos aminoácidos encontrados no dbSNP	37
4.5 ANÁLISE DA PREDIÇÃO DOS EFEITOS FENOTÍPICOS DOS SNPS	39
4.5.1 Hope	40
4.5.2 MutPred2	44
4.5.2.1 <i>ClinVar</i>	45
4.5.2.2 <i>dbSNP</i>	46

4.6 ANÁLISE E DETERMINAÇÃO DO IMPACTO NA ESTABILIDADE DA PROTEÍNA	47
4.6.1 Impacto nas variantes do ClinVar	47
4.6.2 Impacto nas variantes do dbSNP	48
4.7 ANÁLISE DA CONSERVAÇÃO EVOLUTIVA	48
4.8 DOCKING.....	50
4.8.1 Análise da qualidade do modelo gerado	51
4.8.2 Predições do perfil ADMET do ligante.....	53
4.8.3 Análise da ligação entre proteína e o ligante.....	54
5 DISCUSSÃO	56
6 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	61
APÊNDICE A – DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA CLINVAR UTILIZANDO COMO PALAVRA DE BUSCA MC4R, APLICANDO O FILTRO “ <i>MISSENSE</i> ”	69
APÊNDICE B – DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA DBSNP UTILIZANDO COMO PALAVRA DE BUSCA MC4R, APLICANDO O FILTRO “ <i>MISSENSE</i> ”	75
APÊNDICE C – REGRAS DE PONTUAÇÃO DA PLATAFORMA CLINVAR	84
APÊNDICE D – CLASSIFICAÇÃO DE PATOGENICIDADE DA PLATAFORMA CLINVAR.....	85
APÊNDICE E - DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA CLINVAR CONSIDERADOS COM “ <i>SIGNIFICADO INCERTO</i> ” OU COM “ <i>INTERPRETAÇÕES CONFLITANTES DE PATOGENICIDADE</i> ”	87
APÊNDICE F - DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA PREDICTSNP DAS VARIANTES CONSIDERADAS COM “ <i>SIGNIFICADO INCERTO</i> ” OU COM “ <i>INTERPRETAÇÕES CONFLITANTES DE PATOGENICIDADE</i> ”.....	91

1 INTRODUÇÃO

No contexto brasileiro, segundo dados coletados pelo Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Saúde. Ministério da, 2023), aproximadamente 24,3% dos adultos foram classificados como obesos, apresentando semelhança entre homens e mulheres. Quando analisada a frequência, observa-se uma tendência para uma maior incidência de obesidade em faixas etárias até 54 anos na população total e nos homens, enquanto nas mulheres essa tendência se estendeu até os 64 anos.

Segundo as últimas estimativas, aproximadamente 6,8% das crianças e adolescentes de 5 a 19 anos em todo o mundo apresentaram obesidade no ano de 2016. Comparando com os dados de 2009, onde esse valor era de 4,9%, pode-se observar um aumento notável. Ao avaliar a prevalência da obesidade nessa faixa etária, percebe-se também um aumento em todas as regiões avaliadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), e ainda uma permanência mais alta na Região das Américas. Entre os adultos com 18 anos ou mais, a prevalência padronizada por idade também apresentou um aumento entre 2000 e 2016 em todos os continentes (WHO, 2022).

A obesidade é uma doença multifatorial, sendo um dos principais problemas de saúde pública no Brasil e no mundo (Greenberg et al., 2011; Kiess et al., 2008; McLaren, 2007). Estudos epidemiológicos na área têm direcionado o mapeamento de possíveis condições e/ou situações que levam ao quadro de obesidade entre indivíduos de diferentes faixas etárias, gênero e aspectos socioeconômicos (McLaren, 2007; Volaco et al., 2018). Nesse sentido, várias possíveis causas têm sido consideradas na gênese do processo de obesidade em diferentes graus, levando a diferentes complicações clínicas (Apovian, 2016).

Pode-se caracterizar a obesidade como o acúmulo excessivo de gordura, sendo esse excesso de gordura subcutânea e/ou visceral. A gravidade da mesma pode ser determinada pelas suas complicações, por exemplo, dislipidemias e doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer, problemas dermatológicos, dificuldades respiratórias, diabetes tipo 2 e distúrbios do aparelho locomotor (NG; Henikoff, 2001). Em espécies como a nossa, há dois tipos de gordura descritos: o tecido adiposo branco e o marrom.

O tecido adiposo branco é, em sua maior função, responsável por realizar o armazenamento de lipídios em situação de alta disponibilidade de nutrientes, enquanto o tecido marrom é incumbido de gerar calor via oxidação lipídica (AlZaim et al., 2023; Sakers et al., 2022). Decerto, o tecido adiposo branco é um órgão que apresenta características endócrinas, sendo responsável pela secreção de inúmeros hormônios e citocinas, conhecidos como

adipocinas. Esses produtos secretados pelo tecido adiposo estão envolvidos na regulação metabólica, tendo influência na homeostase energética, metabolismo da glicose, resposta inflamatória e outros processos fisiológicos (Arner & Spalding, 2010; Poitou et al., 2005, 2006; Sakers et al., 2022).

Estudos anteriores têm reconhecido que a genética tem papel na obesidade, estimando que a hereditariedade genética da obesidade esteja entre 40 e 70% (Clement et al., 2002; Dubern, 2019; Singh et al., 2017). Do ponto de vista genético, pode-se dividir a obesidade basicamente em duas formas: a forma monogênica e a forma poligênica. A obesidade conhecida como monogênica é aquela causada principalmente por mutações genéticas que ocorrem em genes únicos, tendo maior relevância em um pequeno número de casos extremos de obesidade de início precoce (Lotta et al., 2019b).

Estudos de associação ampla do genoma (GWAS) conseguiram caracterizar, até o momento, mais de 700 variantes genéticas (polimorfismos de nucleotídeo único, SNPs) em genes diversos que estão de alguma forma relacionados aos diversos fenótipos de sobrepeso e obesidade em associação com o índice de massa corporal (IMC) (Tam et al., 2019; Yengo et al., 2018), o que corrobora a característica fenotípica da obesidade poligênica. Entretanto, sabe-se também que a obesidade poligênica tem sido caracterizada por ser atenuada por um estilo de vida saudável, incluindo a prática de exercícios físicos (Rask-Andersen et al., 2017) e a adesão do indivíduo a padrões alimentares mais saudáveis (Wang et al., 2002).

O estudo da fisiopatologia da obesidade e das conexões com as variantes genéticas, representa uma via promissora para avanços no diagnóstico, prognóstico e tratamento dessa condição complexa e multifatorial. A identificação e compreensão das variantes genéticas envolvidas na predisposição à obesidade não apenas esclarecem os mecanismos subjacentes, mas também abrem oportunidades para abordagens terapêuticas mais direcionadas e personalizadas. A investigação das bases genéticas da obesidade oferece informações para desenvolvimento de terapias inovadoras e direcionadas, que podem revolucionar o tratamento dessa condição globalmente prevalente.

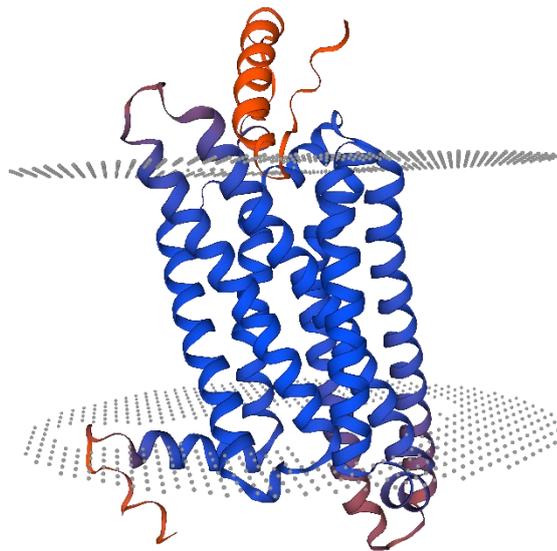
1.1 O RECEPTOR MC4R

O receptor de melanocortina 4 (MC4R), representado na Figura 1, é uma proteína que desempenha papel fundamental na regulação do apetite e do peso corporal. O receptor é expresso majoritariamente no sistema nervoso central (SNC), mais especificamente em regiões

cerebrais envolvidas no controle da ingestão de alimentos e no metabolismo energético (Caruso et al., 2014; Srinivasan et al., 2004).

O MC4R compõe a família dos receptores acoplados à proteína G, que são uma classe importante de receptores transmembranares. Quando ativado, provocado pela conexão com um ligante, o MC4R modula, através de uma cascata de eventos intracelulares produzidos pela proteína G acoplada, a atividade neuronal e a regulação da expressão de neuropeptídeos envolvidos nos controles de fome e saciedade (N. A. Heyder et al., 2021; Kleinau et al., 2020).

Figura 1 – Estrutura tridimensional do receptor MC4R (receptor de melanocortina 4) mostrando a organização em hélice alfa e folhas beta, obtida por modelagem de homologia.



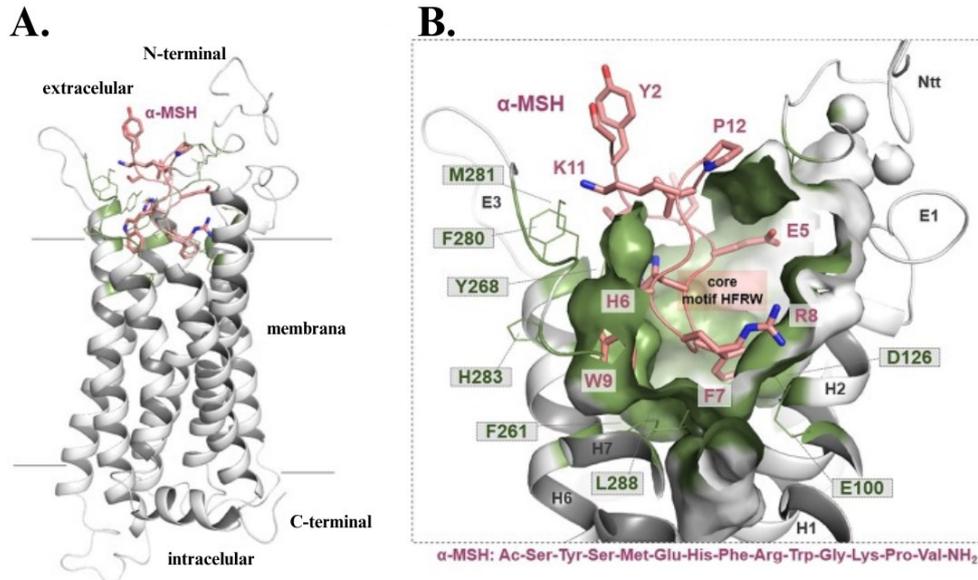
Legenda: representação da estrutura tridimensional do receptor MC4R. O espaço entre as estruturas esféricas representa a membrana plasmática onde encontra-se o receptor.

Fonte: Estrutura gerada utilizando o servidor web de bioinformática Swiss-model (<https://swissmodel.expasy.org/>), utilizando ID Uniprot P32245, em maio de 2023.

1.1.1 Mecanismo de Sinalização

O sistema que envolve o receptor MC4 é composto por vários agonistas, incluindo o hormônio alfa estimulante dos melanócitos (α -MSH) (Figura 2), o hormônio beta estimulante dos melanócitos (β -MSH), o hormônio gama estimulante dos melanócitos (γ -MSH) e o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), juntamente com dois antagonistas endógenos (Smith & Funder, 1988). O sistema melanocortina, no qual o receptor MC4R está envolvido, é o único sistema conhecido que apresenta dois antagonistas endógenos diferentes, Agouti e Peptídeo relacionado ao Agouti (AgRP). O sistema melanocortina é notável por ter múltiplos antagonistas endógenos, agindo como inibidores naturais dos agonistas (Tao, 2010).

Figura 2 – Interação do MC4R com seu agonista α -MSH



Legenda: (A) Ligação do Modelo ao agonista α -MSH; (B) Representação da ligação dos aminoácidos com o modelo gerado.

Fonte: adaptado de N. Heyder et al., 2019.

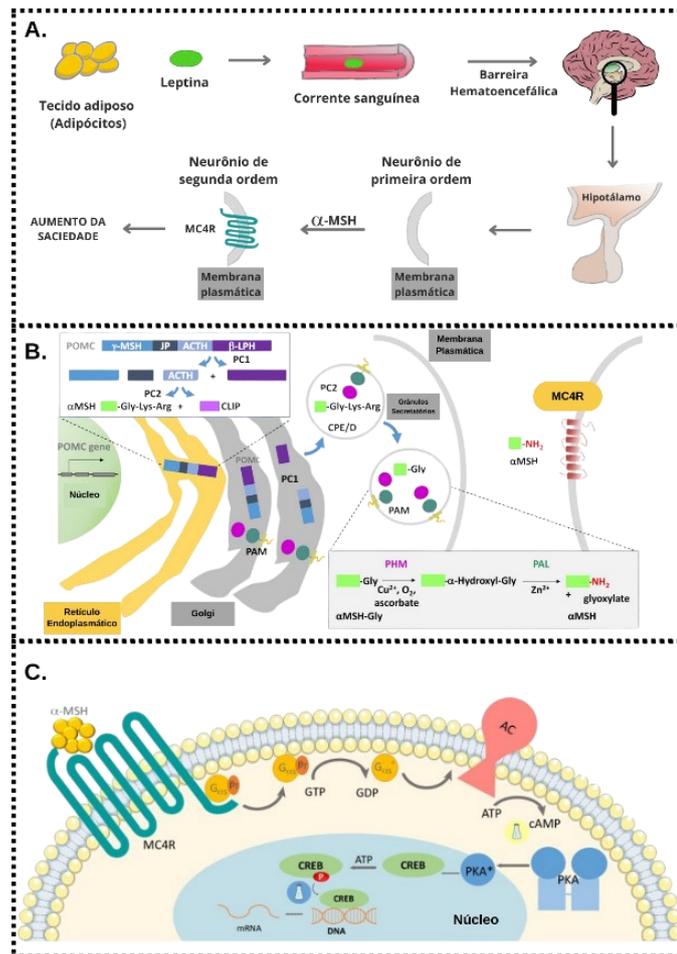
A leptina, sintetizada pelo tecido adiposo, atravessa a barreira hemato encefálica e atinge o hipotálamo onde liga-se aos seus receptores desencadeando sequências de sinais dentro das células que ajustam a atividade de neurônios específicos (Figura 3A). A ativação dos neurônios pró-opiomelanocortina (POMC) (Figura 3B) resulta na redução do apetite e no aumento do gasto energético, ao passo que a ativação dos neurônios do peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP)/neuropeptídeo Y (NPY) estimula o apetite e diminui o gasto energético (Myers et al., 2008). Integrando informações provenientes de outros hormônios e nutrientes, a leptina contribui para regular o equilíbrio energético ao longo prazo, comunicando ao cérebro o estado energético do organismo (Myers et al., 2008).

A interação entre a leptina e o MC4R também tem grande papel na regulação do peso corporal (Lau et al., 2014). A leptina tem sua ação indireta nos neurônios hipotalâmicos que expressam MC4R, portanto, quando os níveis de leptina estão altos (indicando função adequada), leva à ativação neuronal. Essa ativação resulta na supressão do apetite e consequente aumento no gasto energético, fazendo, de certa forma, uma regulação no peso corporal.

Como exemplificação da sinalização exercida pelo receptor (Figura 3C), nas células que possuem expressão do MC4R, a presença do agonista natural α -MSH resulta na ativação da enzima adenilato ciclase, levando a um aumento na síntese de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) (Baldini & Phelan, 2019). A elevação na quantidade de cAMP provoca a ativação da proteína de troca diretamente estimulada por cAMP (EPAC), resultando na fosforilação dependente de ERK1/2 do fator de transcrição do elemento de resposta ao cAMP (CRE) e da

proteína de ligação (CREB). Isso leva a um aumento na transcrição de cFos e uma diminuição na fosforilação e atividade da proteína quinase ativada por AMP (AMPK). A ativação do MC4R e a subsequente elevação de cAMP também inibem a atividade da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que desempenha um papel crítico na regulação do metabolismo energético celular. A diminuição na atividade da AMPK está associada a um estado metabólico mais ativo, caracterizado pelo aumento da síntese de energia, da atividade metabólica e da influência direta nos processos como a ingestão alimentar (Glas et al., 2016; Tao, 2010).

Figura 3 – Ativação do receptor pelo agonista natural α -MSH



Legenda: (A) ; (B) exemplificação da sinalização dos melanotropos, que expressam PC1 e PC2, realizam a clivagem do ACTH para gerar um fragmento N-terminal (precursor de α -MSH) e o CLIP (peptídeo do lobo intermediário semelhante à corticotropina), processo semelhante ao ocorrido na presença de leptina. A produção de α -MSH requer a participação de uma carboxipeptidase, PAM, e uma N-acetiltransferase (não representada); (C) estimulação do agonista α -MSH leva à ativação da proteína G, realizando a cascata de sinalização intracelular.

Fonte: adaptado de Gonçalves et al., 2018; Kumar et al., 2016.

Estudos realizados em animais e em modelos experimentais têm demonstrado que o MC4R está também envolvido na regulação de outros processos fisiológicos, como a regulação

da termogênese, a modulação do metabolismo da glicose e a função cardiovascular (Cone, 2006; Farooqi et al., 2003).

1.1.2 O papel das mutações genéticas

Estudos genéticos foram capazes de identificar mutações no gene *MC4r* como uma das principais causas de obesidade monogênica em seres humanos (Cone, 2006; Farooqi et al., 2003). Mutações no *MC4r* podem levar a uma função anormal do receptor, consequentemente gerando um aumento do apetite e uma diminuição da sensação de saciedade, contribuindo assim para o ganho de peso e a obesidade (Cone, 2006; Farooqi et al., 2003).

1.1.2.1 Relação do receptor com a hiperfagia

Muitas das variantes que ocorrem no *MC4r* resultam em perda de função e são de natureza heterozigótica. Isso significa que promovem um fenótipo considerado intermediário entre as variantes do tipo selvagem, sendo estas as de forma mais comum ou natural de um gene, ou seja, as que estão associadas à característica fenotípica predominante (Tao, 2010). Por sua vez, as mutações homozigóticas têm impactos expressivos na obesidade, e os indivíduos portadores dessas mutações podem apresentar quadros de hiperfagia (Branson et al., 2003).

A hiperfagia, condição frequentemente associada a distúrbios metabólicos ou psicológicos caracterizada pelo aumento anormal do apetite e ingestão de alimentos. É ainda, uma característica comumente relatada em pacientes com obesidade, está amplamente associada a variantes ocorridas na via da leptina-melanocortina (Branson et al., 2003). A associação entre compulsão alimentar aliada à hiperfagia e mutações no gene *MC4r* em humanos já é descrita na literatura (A Hinney et al., 1999; Giles S.H. Yeo et al., 1998).

Farooqi e colaboradores (Farooqi et al., 2003) corroboram as informações ao caracterizar o fenótipo associado às mutações do MC4R, comprovando que indivíduos portadores de determinadas mutações apresentaram hiperfagia e hiperinsulinemia (mais perceptível em pacientes com menos de 10 anos de idade), densidade mineral óssea acima da média e um crescimento linear mais rápido do que os controles pareados por índice de massa corporal. Por outro lado, os portadores destas mutações não apresentaram alterações nos níveis de leptina, lipídios, função adrenal, taxa metabólica em repouso, função tireoidiana e função reprodutiva.

Estudos realizados por van der Klaauw et al., 2016, demonstram que a preferência alimentar é complexa, uma vez que alimentos doces frequentemente também são ricos em gordura e calorias, resultando em escolhas que raramente se limitam a alimentos ricos em gordura ou ricos em sacarose. Cria-se desta forma um paradoxo quando se analisam as variantes genéticas capazes de mudar o comportamento alimentar, tendo estudos (Panaro & Cone, 2013) que indicam que a ausência completa do MC4R em um animal não induz hiperfagia nem aumenta a preferência por alimentos saborosos ricos em carboidratos ou gorduras.

1.2 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS PARA OBESIDADE

As variantes, como descrito anteriormente, em receptores como o MC4R, podem levar a uma série de efeitos de exacerbação ou disfunção do receptor, os quais podem resultar em diminuição do gasto energético, desregulação da saciedade e consequente hiperfagia. Para isso, vários fármacos e medicamentos têm sido estudados como forma de atenuar as complicações geradas pela obesidade.

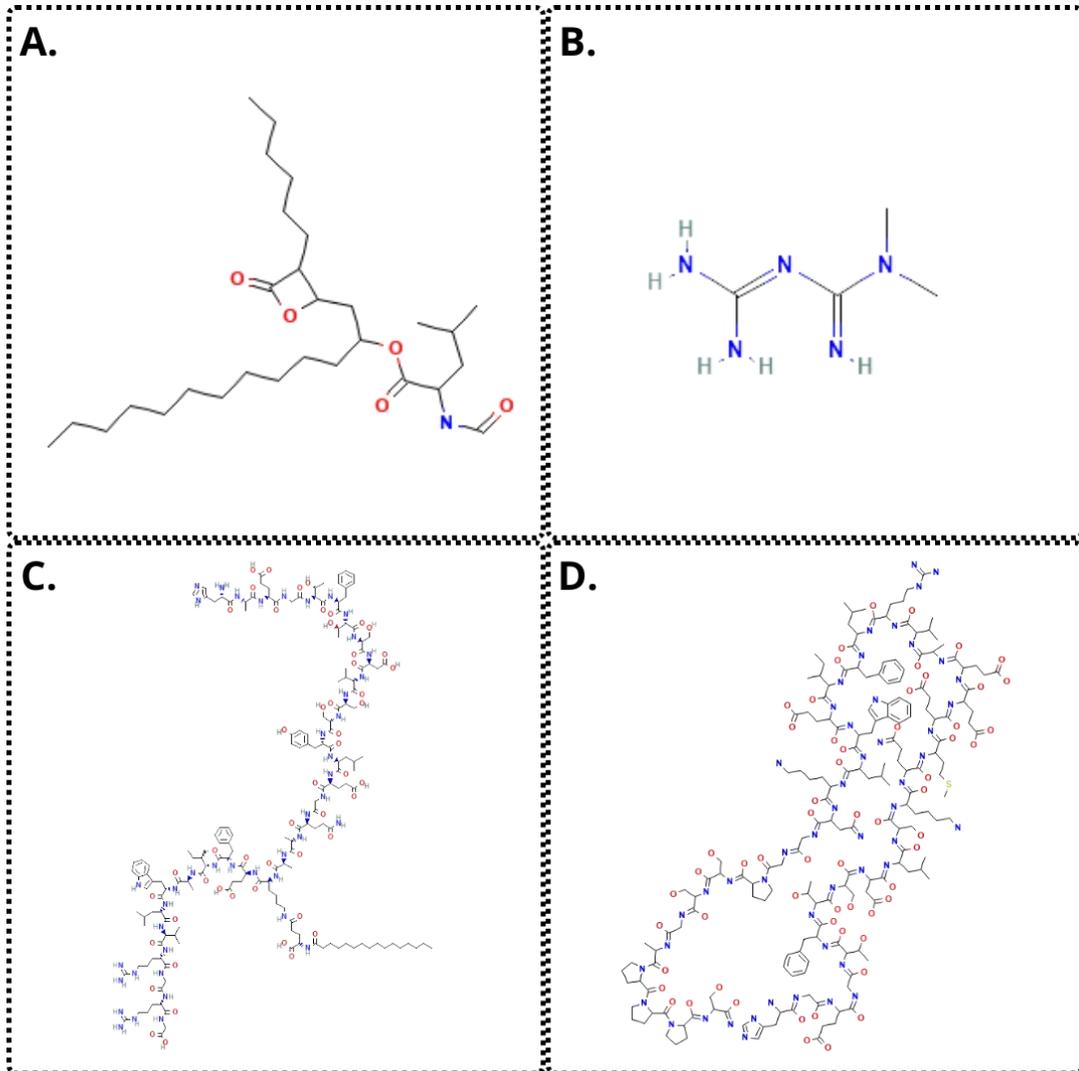
A diretriz de obesidade pediátrica, publicada pela *Endocrine Society*, sugere alterações no estilo de vida, como dieta equilibrada e exercícios físicos, além do uso de Orlistate (Styne et al., 2017). O Orlistate (Figura 4A), tem aprovação da *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da obesidade em jovens entre 12 e 16 anos de idade, atua inibindo as lipases gastrointestinais, fazendo com que ocorra uma diminuição na absorção de gorduras, em até 30%, em adolescentes (McDuffie et al., 2002).

Ainda, nas diretrizes de obesidade pediátrica (Styne et al., 2017), a Metformina (Figura 4B) é apresentada como sendo opção potencial, com evidências limitadas em um número reduzido de estudos; seu uso é respaldado para combater o ganho de peso em pacientes com mais de 10 anos de idade, que sofrem de síndrome dos ovários policísticos ou estão em tratamento com medicamentos antipsicóticos. Ainda, recentes estudos envolvendo a Liraglutida (Figura 4C) e a Exenatida (Figura 4D), realizados em pacientes pediátricos com idades entre 7 e 17 anos, demonstraram ter um potencial para perda de peso moderada. (Mastrandrea et al., 2019).

Os fármacos Orlistate, Metformina, Liraglutida e Exenatida, apesar de terem efeitos proveitosos no controle do peso corporal em certos indivíduos em associação com outras práticas, não foram avaliados quanto a sua eficácia em pacientes com obesidade gerada por variantes genéticas. Entretanto, aparece como destaque a Setmelanotida, um agonista do MC4R desenvolvido pela *Rhythm Pharmaceuticals* para tratar distúrbios genéticos ultrarraros

de obesidade causados por deficiências de proopiomelanocortina (POMC), proproteína convertase subtilisina/kexina tipo 1 (PCSK1) ou receptor de leptina (LEPR) (Markham, 2021).

Figura 4 - Estruturas químicas dos medicamentos



Legenda: (A) Estrutura química do Orlistate; (B) Estrutura química da Metformina; (C) Estrutura química da Liraglutida; (D) Estrutura química da Exenatida.

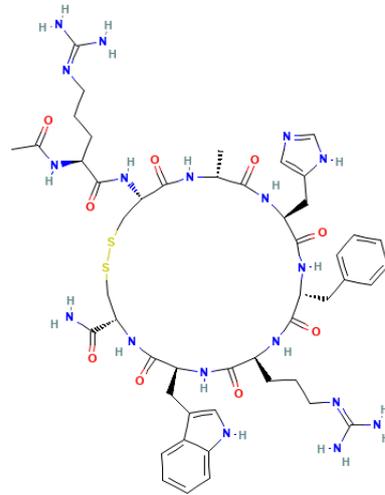
Fonte: elaborado pelo autor, utilizando dados da plataforma Pubchem < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.

1.2.1 A Setmelanotida

A Setmelanotida (Figura 5) é um fármaco que tem sua ação no receptor de melanocortina-4 (MC4R), utilizada para o tratamento da obesidade grave causada por doenças genéticas. A Setmelanotida recebeu aprovação da Food and Drug Administration (FDA) em 25 de novembro de 2020, para o controle crônico de peso em adultos e crianças a partir de seis anos de idade com deficiência de pró-opiomelanocortina (POMC), pró-proteína convertase

deficiente em subtilisina/kexina tipo 1 (PCSK1) ou receptor de leptina (LEPR) (Clément et al., 2018; Kühnen et al., 2016; Markham, 2021).

Figura 5 – Estrutura da setmelanotida



Fonte: Pubchem < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/119937021206> >

Deficiências ou variantes no *POMC*, *PCSK1* ou *LEPR* têm sido associadas à hiperfagia, resultando em obesidade grave de início na infância e podem levar a múltiplas endocrinopatias, como deficiência de hormônio adrenocorticotrófico, hipotireoidismo, hipogonadismo, hipopigmentação e hipoglicemia (Ayers et al., 2018; Ryan, 2020). Sobre sua farmacocinética, a setmelanotida é um octapeptídeo dissulfeto cíclico que possui a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e agir no hipotálamo. É metabolizado em pequenos peptídeos e aminoácidos por vias catabólicas, com uma meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$) de aproximadamente 11 horas (Polyzos et al., 2022).

A administração é realizada por via subcutânea e é disponibilizada em frascos multidose de 1 mL, contendo uma concentração de 10 mg/mL. A dose inicial para a população pediátrica com idades entre 6 e menos de 12 anos é de 1 mg (equivalente a 0,1 mL), administrada diariamente durante duas semanas (Markham, 2021; Polyzos et al., 2022).

Em ensaios multicêntricos de fase 3 (Clément et al., 2020), a setmelanotida foi amplamente associada à perda de peso e consequente diminuição nos índices de fome dos indivíduos portadores de deficiência em LEPR e POMC. Há nestes ensaios uma confirmação da eficácia e segurança do fármaco, confirmada pelos indivíduos do estudo (Clément et al., 2020).

Eventos adversos em três ou mais pacientes, de um n de 27, que participaram de estudos abertos de 52 semanas recebendo setmelanotida (Markham, 2021), incluíram reação no local da injeção, náuseas, vômitos e hiperpigmentação da pele. Além disso, dados da mesma pesquisa, outros efeitos colaterais incluíram: depressão, infecções do trato respiratório superior e priapismo (ereção involuntária e persistente). A compreensão e a gestão dos efeitos adversos são fundamentais para garantir a segurança do paciente, a eficácia do tratamento e o aprimoramento contínuo do medicamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo é identificar variantes alélicas do gene *MC4r* em bancos de dados de domínio público que contenham uma ampla coleção de polimorfismos genéticos de diversos tipos, e associar essas variantes à potencial perda ou ganho de função da proteína MC4R, utilizando estudos de predição *in silico*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar e caracterizar as variantes alélicas *missense* do gene *MC4r*, estabelecendo sua relação com seu significado clínico (patogênico, não patogênico);

Avaliar o impacto funcional das variantes *missense* identificadas no gene *MC4r*, dando ênfase nas classificadas como incertas ou ambíguas pelos bancos de dados genômicos, analisando sua relação com a atividade e função da proteína MC4R;

Consolidar os dados obtidos das análises em plataformas de genômica e bioinformática para criar uma lista de variantes destacando aquelas mais relevantes e clinicamente significativas, facilitando a visualização e interpretação das principais mutações *missense* associadas ao gene *MC4r*;

Investigar a interação da setmelanotida com o receptor MC4R e explorar as implicações das diferentes variantes genéticas na resposta terapêutica à setmelanotida.

3 METODOLOGIA

3.1 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS

O banco de dados de polimorfismos de nucleotídeo único (dbSNP, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) e ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) foram consultados para o gene *MC4r* (ID do gene no NCBI: 4160, Uniprot ID: P32245) em maio de 2023. Todas as variantes foram coletadas, utilizando *missense* como filtro, sendo agrupados em diferentes tabelas.

Ambas as plataformas utilizam termos para classificações representando os cinco níveis de significância clínica: benigno, provavelmente benigno, significado incerto, provavelmente patogênico e patogênico, para variantes germinativas associadas a doenças mendelianas. As submissões são incentivadas a documentar e descrever os critérios utilizados para a classificação das variantes.

As figuras representativas das diversas análises foram geradas utilizando o *software GraphPad Prism 8* (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA), permitindo uma visualização clara e precisa dos resultados obtidos.

3.2 FERRAMENTAS DE PREDIÇÃO DE SUBSTITUIÇÃO DE AMINOÁCIDOS

A ferramenta PredictSNP (<https://loschmidt.chemi.muni.cz/predictsnp/>) foi utilizada com objetivo de prever se as substituições das variantes são deletérias. Essa ferramenta pode ser definida como um classificador de consenso capaz de combinar algumas das ferramentas de melhor desempenho (MAPP, nsSNPAnalyzer, PANTHER, PhD-SNP, PolyPhen-1, PolyPhen-2, SIFT e SNAP), prevendo assim os efeitos esperados da mutação escolhida na função (Bendl et al., 2014).

3.3 PREDIÇÃO DOS EFEITOS ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS

Para predição e análise dos efeitos estruturais e funcionais, HOPE (Have (y)Our Protein Explained) foi usado para criar um relatório com os efeitos que cada mutação pode ter no tamanho da proteína, carga, interação com outras moléculas, padrão de ligação, bem como na acessibilidade da superfície (Venselaar et al., 2010). HOPE

(<https://www3.cmbi.umcn.nl/hope/>) utiliza a sequência FASTA e as alterações de aminoácidos como entrada.

Juntamente com o HOPE, propõe-se a utilização do MutPred2 (<http://mutpred2.mutdb.org/index.html>), pois o método de redes neurais é capaz de estabelecer o impacto fenotípico que as alterações podem ter no referido polimorfismo, como estabilidade de proteínas, problemas de ligação e perda ou ganho de acessibilidade a solventes (Li et al., 2009). A entrada fornecida foi a sequência FASTA e as alterações de aminoácidos e o limiar do valor P foi definido em 0,05.

3.4 DETERMINAÇÃO DO IMPACTO NA ESTABILIDADE DA PROTEÍNA

Para determinar como os polimorfismos afetam a função da proteína, duas ferramentas foram selecionadas I-Mutant2.0 (<https://folding.biofold.org/i-mutant/i-mutant2.0.html>) e MuPro (<https://mupro.proteomics.ics.uci.edu/>). Essas ferramentas são capazes de prever o efeito da mutação com base na máquina de vetores de suporte (Capriotti et al., 2005) e em um conjunto de programas de aprendizado de máquina (Cheng et al., 2006), respectivamente.

Ambas as ferramentas utilizam a sequência FASTA da proteína e respectiva alteração de aminoácidos para o polimorfismo, além de prever a alteração na variação de energia livre de Gibbs ($\Delta\Delta G$) e o sinal na variação de energia.

3.5 CONSERVAÇÃO EVOLUTIVA

A plataforma ConSurf (https://consurf.tau.ac.il/consurf_index.php) fornece informações acerca da conservação de cada aminoácido presente na proteína, possibilitando estimar a taxa evolutiva de cada posição de aminoácido. A análise baseia-se nas relações filogenéticas entre sequências homólogas, sendo importante para avaliar o impacto estrutural e funcional do polimorfismo (Rubin & Ben-Tal, 2021).

3.6 DOCKING MOLECULAR

A execução das simulações computacionais requer a utilização da estrutura tridimensional da proteína em questão. Para isso, é necessário encontrar a proteína codificada pelo gene selecionado, usando um identificador que atenda aos critérios estabelecidos. Esses

critérios incluem uma resolução máxima de 3Å, e uma caracterização estrutural obtida por meio da técnica de raio X, devido à sua maior qualidade.

3.6.1 Análise da qualidade estrutural da proteína e validação dos modelos

Para a geração de cada modelo por homologia da cadeia de interesse das proteínas MC4R, foi utilizada a sequência FASTA correspondentes à proteína codificada com melhor qualidade, analisada pelos parâmetros do item 3.6. Os dados complementários necessário podem ser consultados na base de dados UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Os algoritmos do servidor Swiss-Model, disponível em <https://swissmodel.expasy.org/>, têm como alvo as sequências FASTA das proteínas de interesse para criar modelos por homologia. Dentre os modelos gerados, é escolhido aquele que exibe a maior identidade (100%) e a estimativa mais alta de qualidade global do modelo, conhecida como GMQE (Global Model Quality Estimate), em comparação com os dados cristalográficos armazenados no banco de dados (Waterhouse et al., 2018).

A avaliação da qualidade das estruturas 3D dos modelos é conduzida através de softwares como Swiss-Model Qmean (<https://swissmodel.expasy.org/qmean/>), ProSA-web (<https://prosa.services.came.sbg.ac.at/prosa.php>), Procheck (<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/PROCHECK/>), e PDBSum (<http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/pdbsum/>) (Laskowski et al., 2018; Roman Laskowski et al., 1983; Studer et al., 2019; Wiederstein & Sippl, 2007). Essas ferramentas têm como objetivo avaliar a qualidade do modelo 3D, considerando aspectos como estereoquímica, distâncias e potenciais estatísticos. Elas desempenham um papel crucial na validação dos modelos gerados.

Ainda, foi realizada a partir do software Ligplot+ v2.2 (<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus/>) a análise da ligação entre a proteína e o ligante. Tal análise tem como objetivo de verificar a existência de ligações de hidrogênio e de interações hidrofóbicas importantes para a formação e manutenção do complexo proteína-ligante.

3.6.2 Análise do ligante (setmelanotida)

A estrutura química do ligante (setmelanotida) foi retirada do PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), um banco de dados de moléculas e compostos químicos. Para analisar a qualidade da estrutura, usaremos os softwares MarvinSketch 22.16

(<http://www.chemaxon.com>) e Avogadro 1.2.0 (<https://avogadro.cc/>). Ambos os programas permitem a construção e visualização de fórmulas estruturais e moleculares em 2D e 3D, além de fornecer acesso a mecanismos de correção de erros de ligação e estrutura (Hanwell et al., 2012).

Com os SMILES (Simplified Molecular Input Entry System) da estrutura, podemos realizar o perfil de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade (ADMET) do ligante, avaliando descritores físico-químicos, propriedades farmacocinéticas e toxicidade. Foi utilizado então, ferramentas de predição de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, como as plataformas SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) e ADMETLab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/>) (Daina et al., 2017; Xiong et al., 2021). Essas ferramentas proporcionam uma análise abrangente que pode ser fundamental na fase de desenvolvimento e otimização de fármacos, permitindo uma compreensão mais aprofundada do potencial do ligante em termos de segurança e eficácia.

4 RESULTADOS

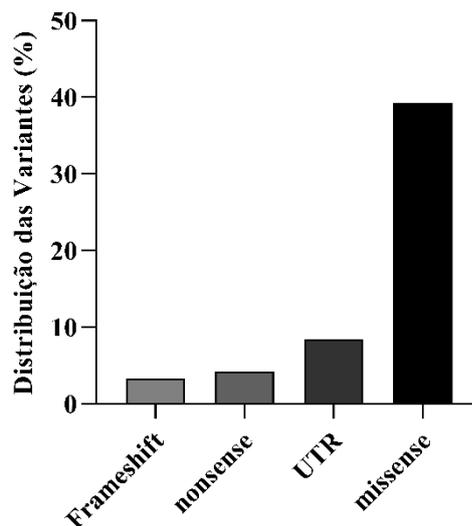
4.1 INFORMAÇÕES GERAIS

O *MC4r* está localizado no cromossomo 18q21.32 e é um gene codificador de proteínas que consiste em apenas 1 éxon. MC4R é composto de 332 aminoácidos (<https://www.uniprot.org/>), tendo apenas um transcrito descrito (<https://www.ensembl.org/index.html>).

4.2 SNPS NO GENE *MC4r*

Os dados extraídos da plataforma ClinVar (APÊNDICE A) revelaram um total de 214 variantes no gene *MC4r*, destes 84 (39,25%) são classificadas como *missense*. Entre as variantes, 7 (3,27%) foram classificadas como *Frameshift*, 9 (4,20%) *nonsense* e 18 (8,41%) classificadas como ocorrendo em regiões não traduzidas (UTR), apresentadas na Figura 6.

Figura 6 – Distribuição das mutações encontradas no ClinVar em porcentagem.



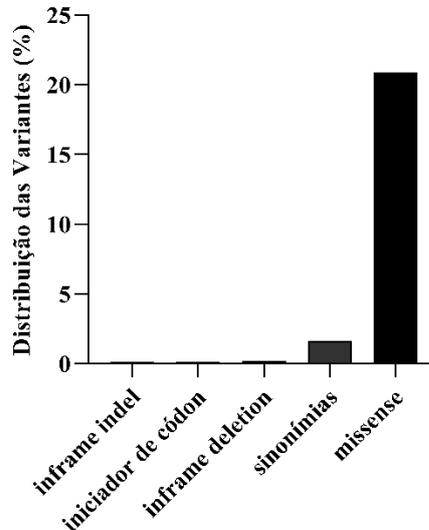
Legenda: Mutações do tipo *missense* (n = 84, 39,25%); mutações frameshift (n = 7, 3,27%); mutações nonsense (n = 9, 4,20%); mutações UTR (n = 18, 8,41%).

Fonte: elaborado pelo autor, utilizando *GraphPad Prism8*.

A análise do dbSNP (APÊNDICE B) revelou um total de 1.678 variantes no gene *MC4r*, sendo que, conforme pode ser observado na Figura 7, 350 (20,86%) delas foram classificadas como *missense*. Entre as variantes, 3 (0,18%) foram classificadas como *inframe deletion*, 2

(0,12%) foram classificadas como *inframe indel*, 2 (0,12%) foram classificadas como iniciador de códon e 127 (1,61%) foram mutações sinonímias.

Figura 7 – Distribuição das mutações encontradas no dbSNP em porcentagem.

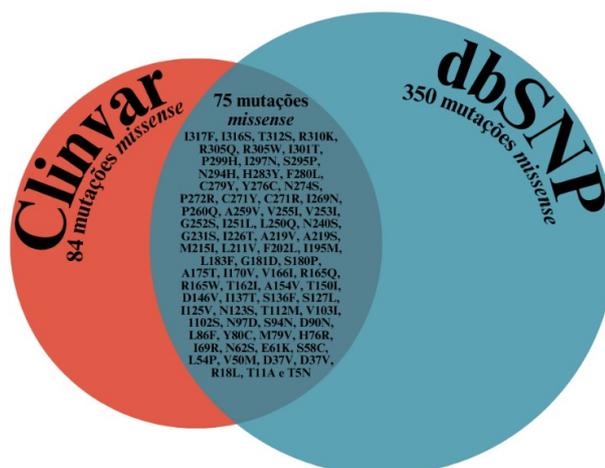


Legenda: Mutações do tipo *missense* (n = 350, 20,86%); mutações *inframe deletion* (n = 3, 0,18%); mutações *inframe indel* (n = 2, 0,12%); mutações no iniciador de códon (n = 2, 0,12%); mutações sinonímias (n = 127, 1,61%).

Fonte: elaborado pelo autor, utilizando *GraphPad Prism8*.

Quando observadas as mutações do tipo *missense* das duas plataformas, pode-se notar que das 84 mutações encontradas na plataforma ClinVar, 75 (89,2%) também estão descritas na plataforma dbSNP (Figura 8).

Figura 8 – Diagrama de Venn ilustrando os achados comuns das duas plataformas.



Fonte: elaborado pelo autor

Para as análises realizadas nas demais etapas o filtro “*missense*” será utilizado, tendo em vista a sua maior frequência em ambas as plataformas.

4.3 ANÁLISE DOS DADOS DAS PLATAFORMAS

4.3.1 ClinVar

Os dados obtidos na plataforma ClinVar (APÊNDICE A) foram novamente analisados, incluindo dois novos filtros: “*patogênico*” e “*provavelmente patogênico*”. A nova filtragem (Tabela 1) apresenta 30 variantes já definidas como patogênicas ou provavelmente patogênicas pela plataforma.

Tabela 1 – Dados extraídos da plataforma ClinVar utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “*missense*”, “*patogênico*” e “*provavelmente patogênico*”

Variação	Troca de Aminoácido	Significado Clínico
NM_005912.3(MC4R):c.947T>G (p.Ile316Ser)	I316S	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.902T>C (p.Ile301Thr)	I301T	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.896C>A (p.Pro299His)	P299H	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.838T>C (p.Phe280Leu)	F280L	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.812G>A (p.Cys271Tyr)	C271Y	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.811T>C (p.Cys271Arg)	C271R	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.779C>A (p.Pro260Gln)	P260Q	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.656C>T (p.Ala219Val)	A219V	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.542G>A (p.Gly181Asp)	G181D	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.538T>C (p.Ser180Pro)	S180P	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.508A>G (p.Ile170Val)	I170V	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.496G>A (p.Val166Ile)	V166I	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.494G>A (p.Arg165Gln)	R165Q	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.493C>T (p.Arg165Trp)	R165W	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.449C>T (p.Thr150Ile)	T150I	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.407C>T (p.Ser136Phe)	S136F	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.374_375inv (p.Ile125Lys)	I125L	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.305T>G (p.Ile102Ser)	I102S	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.289A>G (p.Asn97Asp)	N97D	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.281G>A (p.Ser94Asn)	S94N	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.272T>G (p.Met91Arg)	M91R	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.268G>A (p.Asp90Asn)	D90N	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.258G>T (p.Leu86Phe)	L86F	Provavelmente patogênico

NM_005912.3(MC4R):c.206T>G (p.Ile69Arg)	I69R	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.185A>G (p.Asn62Ser)	N62S	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.181G>A (p.Glu61Lys)	E61K	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.172A>T (p.Ser58Cys)	S58C	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.148G>A (p.Val50Met)	V50M	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.127C>A (p.Gln43Lys)	Q43K	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.[105C>A;110A>T]	Y35*, D37V	Patogênico

Legenda: A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: Elaborada pelo autor, com base nas informações da plataforma *ClinVar*.

Quando os dados extraídos da plataforma ClinVar (APENDICE A) foram analisados acrescidos dos filtros “*missense*”, “*benigno*” e “*provavelmente benigno*”, a nova filtragem (Tabela 2) apresenta 3 variantes.

Tabela 2 – Dados extraídos da plataforma ClinVar utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “*missense*”, “*benigno*” e “*provavelmente benigno*”

Variação	Troca de Proteína	Significado Clínico
NM_005912.3(MC4R):c.751A>C (p.Ile251Leu)	I251L	Benigno/Provavelmente Benigno
NM_005912.3(MC4R):c.368A>G (p.Asn123Ser)	N123S	Provavelmente Benigno
NM_005912.3(MC4R):c.307G>A (p.Val103Ile)	V103I	Benigno

Legenda: I (Ile): Isoleucina; L (Leu): Leucina; N (Asn): Asparagina; S (Ser): Serina; V (Val): Valina.

Fonte: Elaborada pelo autor, com base nas informações da plataforma *ClinVar*.

A determinação do significado clínico da plataforma (Richards et al., 2015) é determinado por critérios específicos que foram agrupados (APÊNDICE B), o mesmo é aplicado para a determinação da patogenicidade (APÊNDICE C).

4.3.2 dbSNP

Quando os dados já extraídos foram analisados, os filtros “*patogênico*” e “*provavelmente patogênico*” foram acrescentados. Ao invés de 1.678 resultados (APÊNDICE B), 44 resultados (Tabela 3) foram obtidos, tendo estas significado clínico bem estabelecido pela plataforma.

Tabela 3 – Dados extraídos da plataforma dbSNP utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “missense”, “patogênico” e “provavelmente patogênico”

ID da Variante	Variação	Troca de Aminoácido	Significado Clínico
rs2229616	NP_005903.2:p.Val103Ile	V (Val) > I (Ile)	Patogênico
rs13447325	NP_005903.2:p.Asp37Val	D (Asp) > V (Val)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Asp37Gly	D (Asp) > G (Gly)	Patogênico
rs52804924	NP_005903.2:p.Pro299Leu	P (Pro) > L (Leu)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Pro299His	P (Pro) > H (His)	Patogênico
rs121913557	NP_005903.2:p.Val50Leu	V (Val) > L (Leu)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Val50Met	V (Val) > M (Met)	Patogênico
rs121913558	NP_005903.2:p.Ser58Cys	S (Ser) > C (Cys)	Patogênico
rs121913559	NP_005903.2:p.Ile102Ser	I (Ile) > S (Ser)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Ile102Thr	I (Ile) > T (Thr)	Patogênico
rs121913560	NP_005903.2:p.Ile170Val	I (Ile) > V (Val)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Ile170Leu	I (Ile) > L (Leu)	Patogênico
rs121913561	NP_005903.2:p.Asn274Ser	N (Asn) > S (Ser)	Patogênico
rs121913562	NP_005903.2:p.Cys271Phe	C (Cys) > F (Phe)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Cys271Tyr	C (Cys) > Y (Tyr)	Patogênico
rs121913563	NP_005903.2:p.Ala175Thr	A (Ala) > T (Thr)	Patogênico
rs121913564	NP_005903.2:p.Ile316Ser	I (Ile) > S (Ser)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Ile316Asn	I (Ile) > N (Asn)	Patogênico
rs121913565	NP_005903.2:p.Asn97Asp	N (Asn) > D (Asp)	Patogênico
rs121913566	NP_005903.2:p.Asn62Ser	N (Asn) > S (Ser)	Patogênico
rs121913567	NP_005903.2:p.Ala219Val	A (Ala) > V (Val)	Patogênico
rs369841551	NP_005903.2:p.Gln156Lys	Q (Gln) > K (Lys)	Patogênico
rs370479598	NP_005903.2:p.Glu61Lys	E (Glu) > K (Lys)	Patogênico
rs751160202	NP_005903.2:p.Ile69Arg	I (Ile) > R (Arg)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Ile69Thr	I (Ile) > T (Thr)	Patogênico
rs756232889	NP_005903.2:p.Phe280Leu	F (Phe) > L (Leu)	Patogênico
rs942758928	NP_005903.2:p.Val166Ile	V (Val) > I (Ile)	Patogênico
rs1057517991	NP_005903.2:p.Cys271Arg	C (Cys) > R (Arg)	Patogênico
rs1380965800	NP_005903.2:p.Ser136Phe	S (Ser) > F (Phe)	Patogênico
rs1435358988	NP_005903.2:p.Pro260Leu	P (Pro) > L (Leu)	Patogênico
	NP_005903.2:p.Pro260Gln	P (Pro) > Q (Gln)	Patogênico
rs1555691402	NP_005903.2:p.Thr162Ile	T (Thr) > I (Ile)	Patogênico
rs2143967167	NP_005903.2:p.Asp90Asn	D (Asp) > N (Asn)	Patogênico
rs52834737	Mesclado ao rs2229616		Patogênico
rs17848587	Mesclado ao rs2229616		Patogênico
rs370479598	NP_005903.2:p.Glu61Lys	E (Glu) > K (Lys)	Patogênico/Provavelmente patogênico
rs549442687	NP_005903.2:p.Arg305Trp	R (Arg) > W (Trp)	Patogênico/Provavelmente patogênico
rs747681609	NP_005903.2:p.Arg165Gln	R (Arg) > Q (Gln)	Patogênico/Provavelmente patogênico
rs13447331	NP_005903.2:p.Ser127Leu	S (Ser) > L (Leu)	Provavelmente patogênico
	NP_005903.2:p.Ser127Trp	S (Ser) > W (Trp)	
rs13447332	NP_005903.2:p.Arg165Trp	R (Arg) > W (Trp)	Provavelmente patogênico

	NP_005903.2:p.Arg165Gly	R (Arg) > G (Gly)	
rs13447333	NP_005903.2:p.Gly181Asp	G (Gly) > D (Asp)	Provavelmente patogênico
rs121913561	NP_005903.2:p.Asn274Ser	N (Asn) > S (Ser)	Provavelmente patogênico
rs121913564	NP_005903.2:p.Ile316Ser	I (Ile) > S (Ser)	Provavelmente patogênico
	NP_005903.2:p.Ile316Asn	I (Ile) > N (Asn)	
rs193922685	NP_005903.2:p.Ser180Pro	S (Ser) > P (Pro)	Provavelmente patogênico
rs369841551	NP_005903.2:p.Gln156Lys	Q (Gln) > K (Lys)	Provavelmente patogênico
rs370479598	NP_005903.2:p.Glu61Lys	E (Glu) > K (Lys)	Provavelmente patogênico
rs766665118	NP_005903.2:p.Thr150Ile	T (Thr) > I (Ile)	Provavelmente patogênico
	NP_005903.2:p.Thr150Ser	T (Thr) > S (Ser)	
rs772213710	NP_005903.2:p.Ser94Asn	S (Ser) > N (Asn)	Provavelmente patogênico
rs772393451	NP_005903.2:p.Leu250Gln	L (Leu) > Q (Gln)	Provavelmente patogênico
rs1057517991	NP_005903.2:p.Cys271Arg	C (Cys) > R (Arg)	Provavelmente patogênico
rs1435358988	NP_005903.2:p.Pro260Leu	P (Pro) > L (Leu)	Provavelmente patogênico
	NP_005903.2:p.Pro260Gln	P (Pro) > Q (Gln)	
rs1915335064	NP_005903.2:p.Ile301Thr	I (Ile) > T (Thr)	Provavelmente patogênico
rs2143967182	NP_005903.2:p.Leu86Phe	L (Leu) > F (Phe)	Provavelmente patogênico

Legenda: A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: Elaborada pelo autor, com base nas informações da plataforma *dbSNP*.

Como forma de ainda expressar os resultados, quando acrescentados os filtros “*missense*” e “*benigno*”, ao invés de 1.678 resultados (APÊNDICE B), 5 resultados foram obtidos (Tabela 4).

Tabela 4 – Dados extraídos da plataforma *dbSNP* utilizando como palavra de busca MC4R, aplicando o filtro “*missense*” e “*benigno*”.

ID da Variante	Varição	Troca de Aminoácido	Significado Clínico
rs2229616	NP_005903.2:p.Val103Ile	V (Val) > I (Ile)	Benigno
rs52820871	NP_005903.2:p.Ile251Leu	I (Ile) > L (Leu)	Benigno
rs138281308	NP_005903.2:p.Phe202Leu	F (Phe) > L (Leu)	Benigno
rs52834737	Mesclado ao rs2229616		Benigno
rs17848587	Mesclado ao rs2229616		Benigno

Fonte: Elaborada pelo autor, com base nas informações da plataforma *dbSNP*.

Legenda: F (Phe): Fenilalanina; I (Ile): Isoleucina; L (Leu): Leucina; V (Val): Valina.

A determinação do significado clínico da plataforma *dbSNP* é determinado pelos mesmos critérios estabelecidos no ClinVar, agrupados no APÊNDICE C, o mesmo é aplicado para a determinação da patogenicidade (APÊNDICE D).

4.4 ANÁLISE DAS SUBSTITUIÇÕES DOS AMINOÁCIDOS NAS PLATAFORMAS

Todas as variantes com significado clínico entendidas como interpretações conflitantes de patogenicidade e significado incerto foram analisadas na plataforma PredictSNP. Tendo como principal objetivo prever qual é a substituição do aminoácido na proteína.

Dos dados da plataforma ClinVar (APÊNDICE E) apenas 15 variantes foram preditas como deletórias, já para o PredictSNP (APÊNDICE F) 10 variantes foram entendidas como causadoras de efeitos deletérios. Para tal definição do efeito deletério, foi estabelecido um critério: apresentar resultado patogênico/deletério em 4 ou mais das plataformas utilizadas pelo PredictSNP (PredictSNP, MAPP, PhD-SNP, Polyphen 1, Polyphen 2, SIFT e SNAP), tal critério considera a patogenicidade em 50% ou mais das plataformas, conforme já descrito em outros trabalhos do grupo de pesquisa (Bratti et al., 2023; Knih & Filipin-Monteiro, 2024).

As mutações gênicas encontradas nas plataformas que serão analisadas são mutações do tipo *missense*, aquelas em que há a substituição de aminoácidos. Para tanto, se compara quais foram os principais aminoácidos mutados no tipo selvagem (antes que sofram mutações), analisando os mais encontrados nos mutados.

4.4.1 Análise dos aminoácidos da plataforma ClinVar

Na plataforma ClinVar 20 aminoácidos foram encontrados (Tabela 5) e tiveram sua apresentação selvagem (antes da mutação) e mutada comparadas.

Tabela 5 – Dados da quantidade de aminoácidos em número absoluto e relativo em tipo-selvagem e mutado na plataforma ClinVar

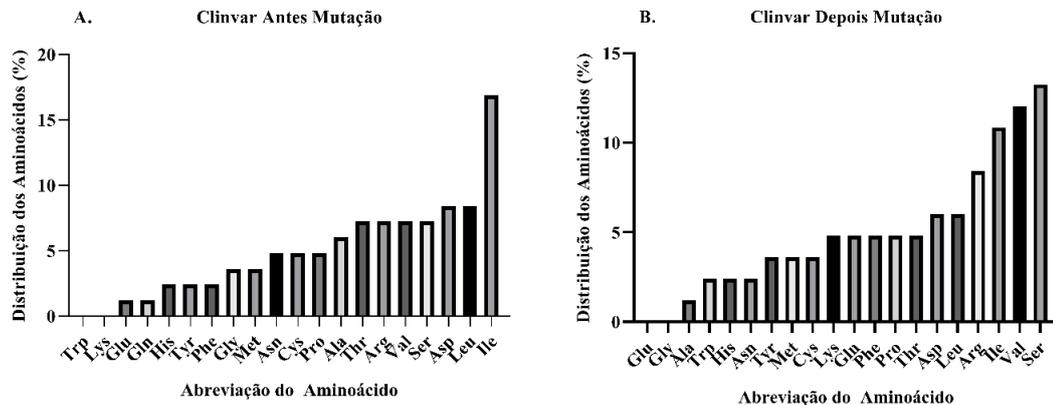
Aminoácido	Selvagem	% dos Aminoácidos Selvagens	Mutações	% dos Aminoácidos Mutados
Ácido Aspártico	7	8,43	5	6,02
Ácido Glutâmico	1	1,21	0	0
Alanina	5	6,02	1	1,21
Arginina	6	7,23	7	8,44
Asparagina	4	4,82	2	2,41
Cisteína	4	4,82	3	3,61
Fenilalanina	2	2,41	4	4,82
Glicina	3	3,61	0	0
Glutamina	1	1,21	4	4,82
Histidina	2	2,41	2	2,41
Isoleucina	14	16,87	9	10,85
Leucina	7	8,43	5	6,02
Lisina	0	0	4	4,82

Metionina	3	3,61	3	3,61
Prolina	4	4,82	4	4,82
Serina	6	7,23	11	13,25
Tirosina	2	2,41	3	3,61
Treonina	6	7,23	4	4,82
Triptofano	0	0	2	2,41
Valina	6	7,23	10	12,05

Fonte: elaborado pelo autor

Os aminoácidos mais frequentes no tipo-selvagem (Figura 9A), e que sofreram mutação foram Isoleucina (16,87%), Ácido Aspártico (8,43%) e Leucina (8,43%), e os menos frequentes Ácido Glutâmico (1,21%), Glutamina (1,21%), Lisina (0%) e Triptofano (0%). Já quando observamos os aminoácidos mais frequentes no mutado (Figura 9B), os mais frequentes são Serina (13,25%), Valina (12,05%), Isoleucina (10,85%) e Arginina (8,44%), os menos frequentes sendo Alanina (1,21%), Glicina (0%) e Ácido Glutâmico (0%).

Figura 9 – Gráficos representando porcentagem (%) dos aminoácidos presentes no tipo-selvagem e mutado, na plataforma ClinVar.



Legenda: A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: elaborada pelo autor

4.4.2 Análise dos aminoácidos encontrados no dbSNP

Quando analisamos os dados extraídos da plataforma dbSNP, encontramos os mesmos 20 aminoácidos (tabela 6) com a sua distribuição nos tipo-selvagem e mutados.

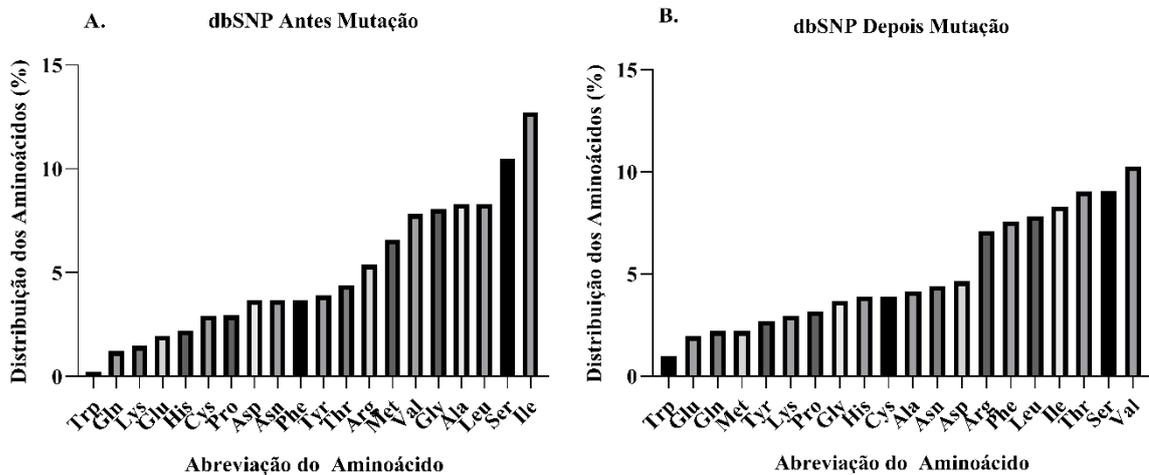
Tabela 6 – Dados da quantidade de aminoácidos em número absoluto e relativo em tipo-selvagem e mutado na plataforma dbSNP.

Aminoácido	Selvagem	% dos Aminoácidos Selvagens	Mutações	% dos Aminoácidos Mutados
Ácido Aspártico	15	3,67	19	4,64
Ácido Glutâmico	8	1,96	8	1,96
Alanina	34	8,31	17	4,16
Arginina	22	5,38	29	7,09
Asparagina	15	3,67	18	4,4
Cisteína	12	2,93	16	3,91
Fenilalanina	15	3,67	31	7,58
Glicina	33	8,07	15	3,67
Glutamina	5	1,22	9	2,2
Histidina	9	2,2	16	3,91
Isoleucina	52	12,72	34	8,31
Leucina	34	8,31	32	7,82
Lisina	6	1,47	12	2,94
Metionina	27	6,6	9	2,2
Prolina	12	2,94	13	3,18
Serina	43	10,51	37	9,05
Tirosina	16	3,91	11	2,69
Treonina	18	4,4	37	9,04
Triptofano	1	0,24	4	0,98
Valina	32	7,82	42	10,27

Fonte: elaborado pelo autor

Os aminoácidos mais frequentes no tipo-selvagem (Figura 10A), e que sofreram mutação foram Isoleucina (12,72%), Serina (10,51%), Leucina (8,31%) e Alanina (8,31%), e os menos frequentes Ácido Glutâmico (1,96%), Lisina (1,47%), Glutamina (1,22%) e Triptofano (0,24%). Já quando observamos os aminoácidos mais frequentes no mutado (Figura 10B), os mais frequentes são Valina (10,27%), Serina (9,05%) e Treonina (9,04%), os menos frequentes sendo Ácido Glutâmico (1,96%) e Triptofano (0,98%).

Figura 10 – Gráficos representando porcentagem (%) dos aminoácidos presentes no tipo-selvagem e mutado, na plataforma dbSNP.



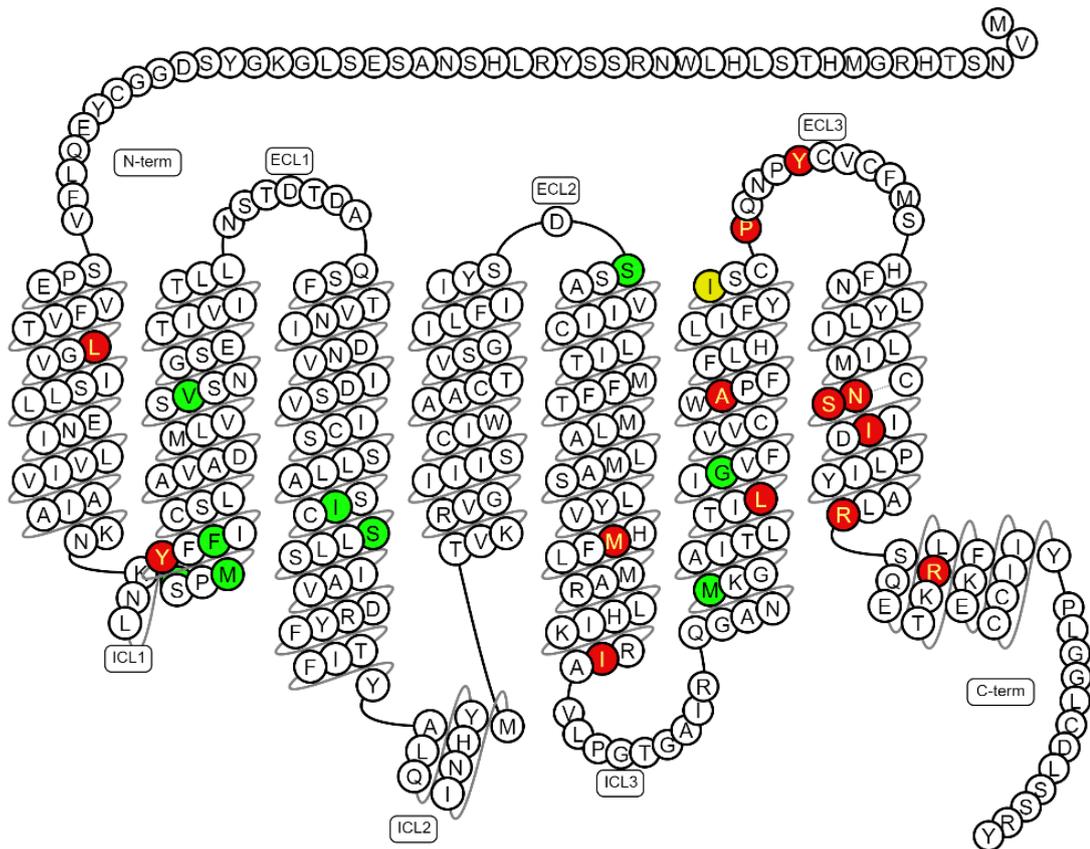
Legenda: A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina. Fonte: elaborada pelo autor

4.5 ANÁLISE DA PREDIÇÃO DOS EFEITOS FENOTÍPICOS DOS SNPS

As variantes previamente selecionadas foram submetidas a duas diferentes plataformas, com objetivo de fornecer a predição dos efeitos estruturais, funcionais e o impacto fenotípico das mesmas.

Para ilustrar a localização das variantes na sequência de transcrição do MC4R, foi elaborado o diagrama SNAKE (Figura 11) do gene *MC4r*, marcando na cor vermelha as variantes encontradas no ClinVar, em verde as encontradas no dbSNP e em amarelo as mutações comuns às duas plataformas.

Figura 11 – Diagrama SNAKE do gene *MC4r* com variantes das duas plataformas



Legenda: Coloridas em verde estão as mutações do dbSNP, em amarelo as em comum das duas plataformas e em vermelho as mutações do ClinVar. A (Ala): Alanina; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina;

I (Ile): Isoleucina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; R (Arg):

Arginina; S (Ser): Serina; V (Val): Valina; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: elaborado utilizando GPCRdb <<https://gpcrdb.org/>>, em abril de 2023.

4.5.1 Hope

A ferramenta HOPE foi capaz de fornecer informações das variantes das duas plataformas. As informações obtidas referem-se acerca do tamanho do resíduo mutante, o resíduo mais hidrofóbico, a conservação e o dano dos resíduos do tipo-selvagem, além dos comentários sobre a sequência de substituição da proteína.

As informações acerca da plataforma ClinVar foram tabeladas manualmente (Tabela 7) a partir dos seus relatórios.

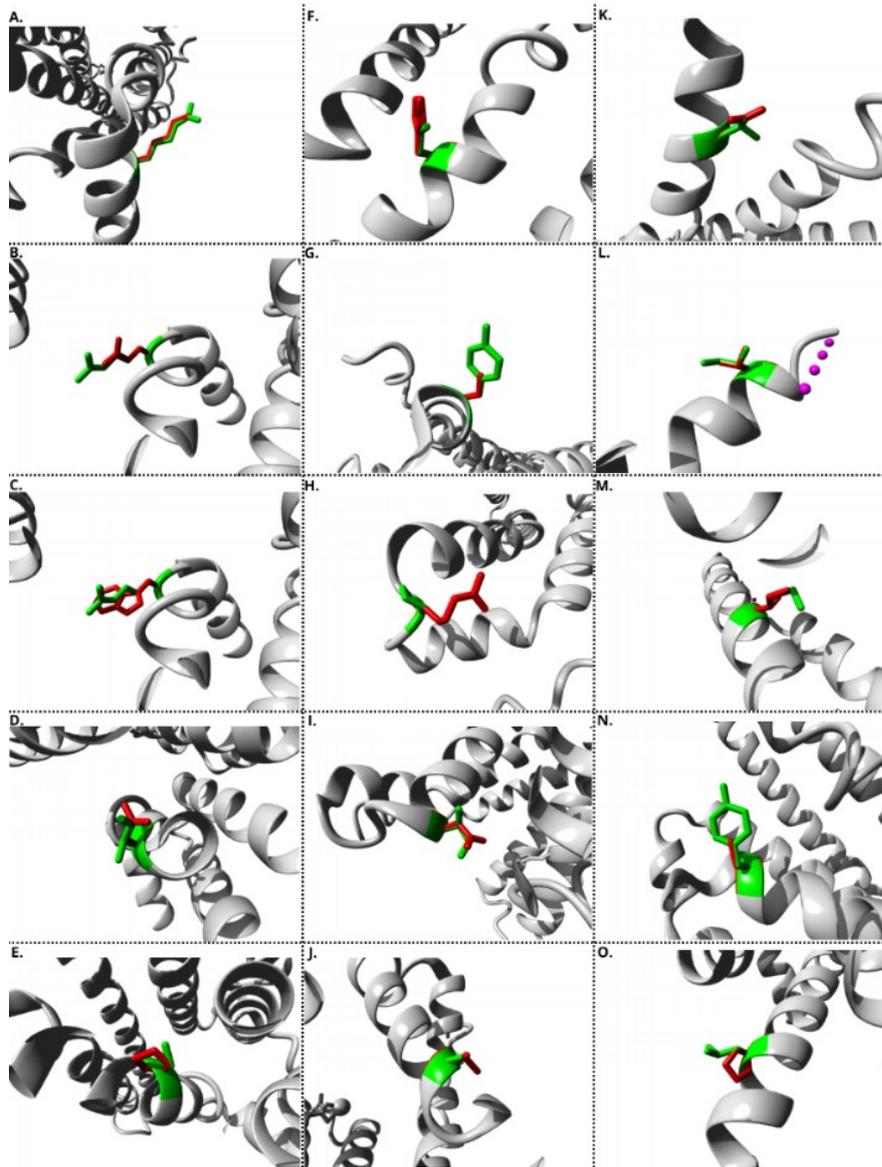
Tabela 7 – Informações obtidas do relatório gerado pela plataforma HOPE das variantes do Clinvar

Varição	Tamanho do resíduo mutante	Resíduo mais hidrofóbico	Conservação do Resíduo tipo selvagem	Dano	Comentários
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	Menor	-	Muito conservado	Provavelmente prejudicial	O resíduo mutado está localizado em um domínio importante para a atividade da proteína e em contato com resíduos de outro domínio. É possível que esta interação seja importante para o correto funcionamento da proteína. A mutação pode afetar esta interação e, como tal, afetar a função proteica
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	Menor	-	Muito conservado	Provavelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	Maior	Mutante	Muito conservado	Provavelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.890T>A (p.Ile297Asn)	Maior	Tipo-selvagem	-	-	
NM_005912.3(MC4R):c.883T>C (p.Ser295Pro)	Maior	Mutante	-	-	
NM_005912.3(MC4R):c.880A>C (p.Asn294His)	Maior	-	Muito conservado	Possivelmente não prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	Menor	Mutante	Não conservado	Possivelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	Maior	Tipo-selvagem	Conservado	Provavelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	Maior	Tipo-selvagem	Não conservado	Possivelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	Maior	-	Não conservado	Possivelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	Maior	Tipo-selvagem	Muito conservado	Em casos raros pode ocorrer sem danificar a proteína	
NM_005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	Menor	Tipo-selvagem	-	-	
NM_005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	Menor	-	-	-	
NM_005912.3(MC4R):c.239A>G (p.Tyr80Cys)	Menor	Mutante	-	Provavelmente prejudicial	
NM_005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	Menor	-	Muito conservado	Em casos raros pode ocorrer sem danificar a proteína	

Fonte: elaborada pelo autor, a partir dos relatórios da plataforma HOPE.

A Figura 12 ilustra as substituições ocorridas, representando a proteína e juntamente os aminoácidos que foram mutados em cada uma das variantes e tem como fonte o mesmo relatório da tabela. Na figura a proteína é colorida em cinza e as cadeias laterais do resíduo do tipo-selvagem e mutante são mostradas e coloridas em verde e vermelho, respectivamente.

Figura 12 – Close das variantes da plataforma ClinVar



Legenda: Representação tridimensional ampliada das variantes na proteína MC4R, mostrando diferentes variantes em locais específicos da estrutura. As alterações estruturais são destacadas para ilustrar como as variantes genéticas podem influenciar a conformação e função da proteína. Proteína colorida em cinza e cadeias laterais do resíduo do tipo-selvagem e mutante são mostradas e coloridas em verde e vermelho, respectivamente. (A) variante p.Arg310Lys; (B) variante p.Arg305Gln; (C) variante p.Arg305Trp; (D) variante p.Ile297Asn; (E) variante p.Ser295Pro; (F) variante p.Asn294His; (G) variante p.Tyr276Cys; (H) variante p.Pro272Arg; (I) variante p.Ile269Asn; (J) variante p.Ala259Val; (K) variante p.Leu250Gln; (L) variante p.Ile226Thr; (M) variante p.Met215Ile; (N) variante p.Tyr80Cys; (O) variante p.Leu54Pro.

Fonte: elaborada pelo autor, a partir dos relatórios da plataforma HOPE.

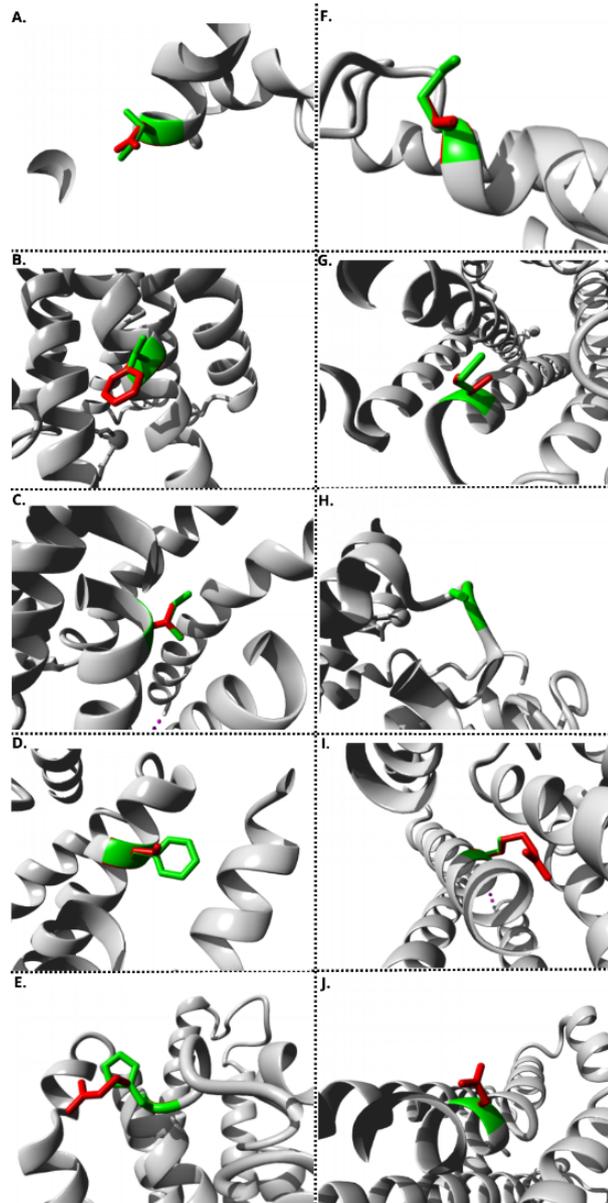
O mesmo se deu para os dados gerados para as variantes do dbSNP, foram tabelados manualmente (tabela 8) a partir dos relatórios fornecidos pelo HOPE. A Figura 13 ilustra as substituições, na figura a proteína é colorida em cinza e as cadeias laterais do resíduo do tipo-selvagem e mutante são mostradas e coloridas em verde e vermelho, respectivamente.

Tabela 8 – Informações obtidas do relatório gerado pela plataforma HOPE das variantes do dbSNP.

Variação	Tamanho do resíduo mutante	Resíduo mais hidrofóbico	Conservação do Resíduo tipo selvagem	Dano	Comentários
NP_005903.2:p.Ile269Asn	Maior	Tipo-selvagem	Não conservado	Possivelmente Prejudicial	O resíduo mutado está localizado em um domínio importante para a atividade da proteína e em contato com resíduos de outro domínio. A mutação pode afetar esta interação e, como tal, afetar a função proteica
NP_005903.2:p.Val95Phe	Maior	-	Altamente conservado	-	
NP_005903.2:p.Ile137Thr	Menor	Tipo-selvagem	-	-	
NP_005903.2:p.Phe82Leu	Menor	-	Muito conservado	Possivelmente não prejudicial	
NP_005903.2:p.His76Arg	Maior	-	Altamente conservado	Provavelmente prejudicial	
NP_005903.2:p.Met241Thr	Menor	Tipo-selvagem	Não conservado	Possivelmente prejudicial	
NP_005903.2:p.Met79Ile	Menor	-	Muito conservado	Provavelmente prejudicial	
NP_005903.2:p.Ser190Gly	Menor	-	-	-	
NP_005903.2:p.Ser139Arg	Maior	Tipo-selvagem	-	-	
NP_005903.2:p.Gly252Asp	Maior	Tipo-selvagem	-	Provavelmente prejudicial	

Fonte: elaborada pelo autor, elaborada pelo autor, a partir dos relatórios da plataforma HOPE.

Figura 13 – Close das variantes da plataforma dbSNP



Legenda: Representação tridimensional ampliada das variantes na proteína MC4R, mostrando diferentes variantes em locais específicos da estrutura. As alterações estruturais são destacadas para ilustrar como as variantes genéticas podem influenciar a conformação e função da proteína. Proteína colorida em cinza e cadeias laterais do resíduo do tipo-selvagem e mutante são mostradas e coloridas em verde e vermelho, respectivamente.

(A) variante p.Ile269Asn; (B) variante p.Val95Phe; (C) variante p.Ile137Thr; (D) variante Phe82Leu; (E) variante p.His76Arg; (F) variante p.Met241Thr; (G) variante p.Met79Ile; (H) variante p.Ser190Gly; (I) variante p.Ser139Arg; (J) variante p.Gly252Asp;

Fonte: elaborada pelo autor, elaborada pelo autor, a partir dos relatórios da plataforma *HOPE*.

4.5.2 MutPred2

O MutPred2 foi empregado para avaliar a patogenicidade das mudanças nos aminoácidos. Se a pontuação atingisse ou ultrapassasse 0,8, a variante era classificada como

altamente patogênica. Uma característica interessante deste servidor é sua capacidade de prever se as variantes provocam a ocorrência de algum distúrbio intrínseco.

4.5.2.1 ClinVar

As variantes p.Arg305Trp, p.Ile297Asn, p.Ser295Pro, p.Tyr276Cys, p.Pro272Arg, p.Ile269Asn, p.Leu250Gln, p.Met215Ile, p.Tyr80Cys e p.Leu54Pro tiveram pontuação superior a 0,8. Já p.Arg310Lys, p.Arg305Gln, p.Asn294His, p.Ala259Val e p.Ile226Thr são consideradas moderadamente patogênicas, pois o valor de corte para patogenicidade é 0,5. Maiores detalhes podem ser observados na tabela 9.

Tabela 9 – Score e impacto previstos pelo MutPred2 na patogenicidade das variantes do Clinvar.

Variante	Score	Mecanismo molecular com valores de P inferiores a 0,05
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	0.746	-
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	0.748	Interface ordenada alterada; Perda do sítio alostérico em Y302; Proteína transmembrana alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	0.843	Interface ordenada alterada; Perda do sítio alostérico em Y302; Proteína transmembrana alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.890T>A (p.Ile297Asn)	0.829	Proteína transmembrana alterada; Metal binding alterada; Interface ordenada alterada; Ganho de sítio alostérico em Y302.
NM_005912.3(MC4R):c.883T>C (p.Ser295Pro)	0.883	Proteína transmembrana alterada; Metal binding alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.880A>C (p.Asn294His)	0.781	Proteína transmembrana alterada; Metal binding alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	0.879	Metal binding alterada; Interface ordenada alterada; Proteína transmembrana alterada; Perda de Loop; Perda de Strand; Perda de ligação dissulfeto em C277; Perda de sulfatação em Y276.
NM_005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	0.868	Interface ordenada alterada; Ganho de Strand; Proteína transmembrana alterada; Ganho de Loop; Metal binding alterada; Ganho de ligação dissulfeto em C277; Ganho de ácido pirrolidona carboxílico em Q273.
NM_005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	0.880	Proteína transmembrana alterada, Perda de Strand; Interface ordenada alterada; Metal binding alterada; Perda de sulfatação em Y268.
NM_005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	0.791	Interface ordenada alterada; Metal binding alterada; Proteína transmembrana alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	0.932	Perda de Hélice; Ganho de Strand; Interface ordenada alterada; Proteína transmembrana alterada.

NM_005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	0.790	Ganho do sítio alostérico em H222; Estabilidade alterada; Metal binding alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	0.824	Interface ordenada alterada; Metal binding alterada; Proteína transmembrana alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.239A>G (p.Tyr80Cys)	0.897	Interface ordenada alterada; Perda de Strand; Proteína transmembrana alterada.
NM_005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	0.957	Perda de Hélice; Ganho de Strand; Ganho de Loop; Proteína transmembrana alterada.

Fonte: elaborado pelo autor, com base nos dados da plataforma *MutPred2*.

4.5.2.2 dbSNP

Quando analisadas as mutações do dbSNP (Tabela 10), p.Ile269Asn, p.Phe82Leu, p.His76Arg, p.Met241Thr, p.Met79Ile e p.Gly252Asp obtiveram pontuação superior a 0,8. Já as variantes p.Val95Phe, p.Ile137Thr e p.Ser139Arg são considerados moderadamente patogênicos, pois o valor de corte para patogenicidade é 0,5. Espera-se que p.Ser190Gly, com score de 0,298, não tenha propriedades tão patogênicas quanto as outras analisadas.

Tabela 10 – Score e impacto previstos pelo *MutPred2* na patogenicidade das variantes do dbSNP.

Variante	Score	Mecanismo molecular com valores de P inferiores a 0,05
NP_005903.2:p.Ile269Asn	0.880	Proteína transmembrana alterada; Perda de Strand; Interface ordenada alterada; Metal binding alterada; Perda de sulfatação em Y268.
NP_005903.2:p.Val95Phe	0.732	Proteína transmembrana alterada; Perda de amidação da âncora GPI no N97; Perda de glicosilação ligada a N em N97.
NP_005903.2:p.Ile137Thr	0.768	Proteína transmembrana alterada.
NP_005903.2:p.Phe82Leu	0.806	Perda de Strand; Interface ordenada alterada.
NP_005903.2:p.His76Arg	0.877	Interface ordenada alterada; Ganho do sítio alostéricos em H76; Metal binding alterada; Proteína transmembrana alterada.
NP_005903.2:p.Met241Thr	0.850	Interface ordenada alterada; Proteína transmembrana alterada; Ganho de Strand; Ganho de ácido pirrolidona carboxílico em Q237; Ganho de sítio catalítico em K242; Ganho de metilação em K242; Ganho de amidação da âncora GPI no N240.
NP_005903.2:p.Met79Ile	0.834	Ganho de Strand; Interface ordenada alterada.
NP_005903.2:p.Ser190Gly	0.298	-
NP_005903.2:p.Ser139Arg	0.726	Interface ordenada alterada; Proteína transmembrana alterada.
NP_005903.2:p.Gly252Asp	0.950	Ganho de Hélice; Perda de Strand; Proteína transmembrana alterada; Interface ordenada alterada.

Fonte: elaborado pelo autor, com base nos dados da plataforma *MutPred2*.

4.6 ANÁLISE E DETERMINAÇÃO DO IMPACTO NA ESTABILIDADE DA PROTEÍNA

Para analisar as variações na estabilidade, empregou-se o MuPro e o I-Mutant 2.0. Ambas as ferramentas concedem uma pontuação para a mudança na energia livre ($\Delta\Delta G$). Se a pontuação for inferior a -0,5 Kcal/mol, indica que a alteração nos aminoácidos pode provocar uma desestabilização significativa da proteína. Por outro lado, se a pontuação for superior a 0,5 Kcal/mol, é possível que a alteração contribua para o aumento da estabilidade da proteína.

4.6.1 Impacto nas variantes do ClinVar

Os resultados obtidos nas plataformas (Tabela 11) foram ao encontro em 12 das variantes (p.Arg310Lys, p.Arg305Gln, p.Arg305Trp, p.Ile297Asn, p.Asn249His, p.Tyr276Cys, p.Pro272Arg, p.Ile269Asn, p.Leu250Gln, p.Ile226Thr, p.Met215Ile e p.Leu54Pro) corroborando que haja uma diminuição da estabilidade da proteína quando há a substituição. Para as outras 3 variantes (p.Ser295Pro, p.Ala259Val e p.Tyr80Cys) as plataformas discordam I-Mutant2.0 leva o resultado para aumento da estabilidade, enquanto o MuPro para a diminuição da estabilidade da proteína.

Tabela 11 – Informações obtidas nos relatórios gerados pelo I-Mutant2.0 e MuPro, usando as variantes do ClinVar.

	I-Mutant2.0		MuPro	
	Estabilidade	Índice de Confiabilidade	Estabilidade da estrutura da proteína	Delta delta G
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	Diminui	8	Diminui	-0.93526341
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	Diminui	7	Diminui	-0.68134819
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	Diminui	6	Diminui	-0.75634206
NM_005912.3(MC4R):c.890T>A (p.Ile297Asn)	Diminui	8	Diminui	-2.0257354
NM_005912.3(MC4R):c.883T>C (p.Ser295Pro)	Aumenta	3	Diminui	-1.3044289
NM_005912.3(MC4R):c.880A>C (p.Asn294His)	Diminui	6	Diminui	-1.129227
NM_005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	Diminui	2	Diminui	-0.70263823
NM_005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	Diminui	8	Diminui	-0.74678866
NM_005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	Diminui	7	Diminui	-1.5477705

NM_005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	Aumenta	4	Diminui	-0.25056013
NM_005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	Diminui	9	Diminui	-1.7661583
NM_005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	Diminui	8	Diminui	-2.2831947
NM_005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	Diminui	4	Diminui	-0.69669072
NM_005912.3(MC4R):c.239A>G (p.Tyr80Cys)	Aumenta	2	Diminui	-1.0859652
NM_005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	Diminui	6	Diminui	-1.9522707

Fonte: elaborada pelo autor, com base nos dados das plataformas *I-Mutant2.0* e *MuPro*.

4.6.2 Impacto nas variantes do dbSNP

O resultado dos relatórios gerados pelas plataformas *I-Mutant2.0* e *MuPro* das substituições (Tabela 12), inferem que em todas as 10 mutações do dbSNP (p.Ile269Asn, p.Val95Phe, p.Ile137Thr, p.Phe82Leu, p.His76Arg, p.Met241Thr, p.Met79Ile, p.Ser190Gly, p.Ser139Arg e p.Gly252Asp) há uma diminuição da estabilidade da estrutura proteica.

Tabela 12 – Informações obtidas nos relatórios gerados pelo *I-Mutant2.0* e *MuPro*, usando as variantes do dbSNP.

	I-Mutant2.0		MuPro	
	Estabilidade	Índice de Confiabilidade	Estabilidade da estrutura da proteína	Delta delta G
NP_005903.2:p.Ile269Asn	Diminui	7	Diminui	-1.5477705
NP_005903.2:p.Val95Phe	Diminui	9	Diminui	-1.0047358
NP_005903.2:p.Ile137Thr	Diminui	9	Diminui	-2.1449585
NP_005903.2:p.Phe82Leu	Diminui	6	Diminui	-1.1064825
NP_005903.2:p.His76Arg	Diminui	7	Diminui	-0.46545416
NP_005903.2:p.Met241Thr	Diminui	6	Diminui	-1.3141646
NP_005903.2:p.Met79Ile	Diminui	7	Diminui	-0.6987252
NP_005903.2:p.Ser190Gly	Diminui	7	Diminui	-1.1475532
NP_005903.2:p.Ser139Arg	Diminui	4	Diminui	-1.1445855
NP_005903.2:p.Gly252Asp	Diminui	8	Diminui	-0.76262226

Fonte: elaborada pelo autor, com base nos dados das plataformas *I-Mutant2.0* e *MuPro*.

4.7 ANÁLISE DA CONSERVAÇÃO EVOLUTIVA

O ConSurf é uma ferramenta que avalia a conservação dos resíduos de aminoácidos em proteínas, atribuindo uma pontuação de 1 a 9. Quanto mais alta a pontuação, maior a probabilidade de um resíduo ser conservado ao longo da evolução, indicando sua importância

p.Ser295Pro	8	p.His76Arg	9
p.Asn294His	9	p.Met241Thr	7
p.Tyr276Cys	5	p.Met79Ile	9
p.Pro272Arg	9	p.Ser190Gly	5
p.Ile269Asn	6	p.Ser139Arg	8
p.Ala259Val	8	p.Gly252Asp	9
p.Leu250Gln	9	-	-
p.Ile226Thr	9	-	-
p.Met215Ile	9	-	-
p.Tyr80Cys	9	-	-
p.Leu54Pro	8	-	-

Fonte: elaborado pelo autor, com base na interpretação dos resultados da plataforma *ConSurf*.

Das variantes da plataforma ClinVar p.Arg310Lys, p.Arg305Gln, p.Arg305Trp, p.Asn294His, p.Pro272Arg, p.Leu250Gln, p.Ile226Thr, p.Met215Ile e p.Tyr80Cys pontuaram 9 nas análises do ConSurf, o que significa que são provavelmente locais funcionais para a proteína MC4R. p.Ile297Asn, p.Ser295Pro, p.Ala259Val e p.Leu54Pro pontuaram 8, o que significa que ainda são locais altamente conservados e também podem ser importantes para a função da proteína. No entanto, p.Ile269Asn obteve pontuação 6 e p.Tyr276Cys obteve pontuação 5, o que significa que esses resíduos provavelmente estão em regiões mais variáveis que provavelmente não afetariam a função.

Já quando analisadas as mutações da plataforma dbSNP p.His76Arg, p.Met79Ile e p.Gly252Asp obtiveram pontuação 9 na análise no ConSurf, significando que são locais na proteína que tem ampla funcionalidade. p.Ile137Thr, p.Phe82Leu e p.Ser139Arg tiveram pontuação 7, que ainda é um local altamente conservado e podendo ser um local importante para a função proteica. Entretanto, p.Ile269Asn teve pontuação 6, p.Val95Phe e p.Ser190Gly tiveram pontuação 5, estas apresentam substituições em regiões onde há uma menor probabilidade de afetar a função da proteína.

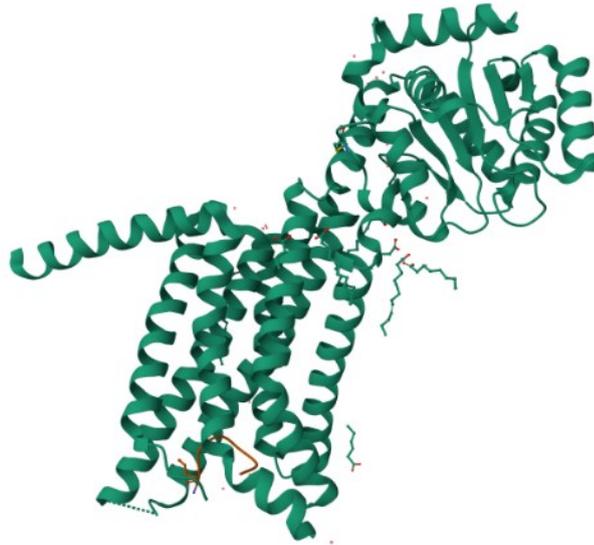
4.8 DOCKING

Através de pesquisa na plataforma UniProt, identificou-se a estrutura da proteína MC4R, para a escolha selecionou-se a com identificador 6W25, isso por ter tido sua estrutura por Raio-X, e apresentar boa resolução (2.75 Å).

Após a seleção da melhor estrutura, foi encontrada a proteína na plataforma PDB onde conseguimos mais uma vez identificar como seria a proteína (Figura 15), e ainda adquirir a

sequência FASTA estabelecida para esta estrutura. Tal estrutura encontra-se ligada a um ligante que será excluído em passos posteriores.

Figura 15 – Estrutura do MC4R, gerado pelo identificador 6W25



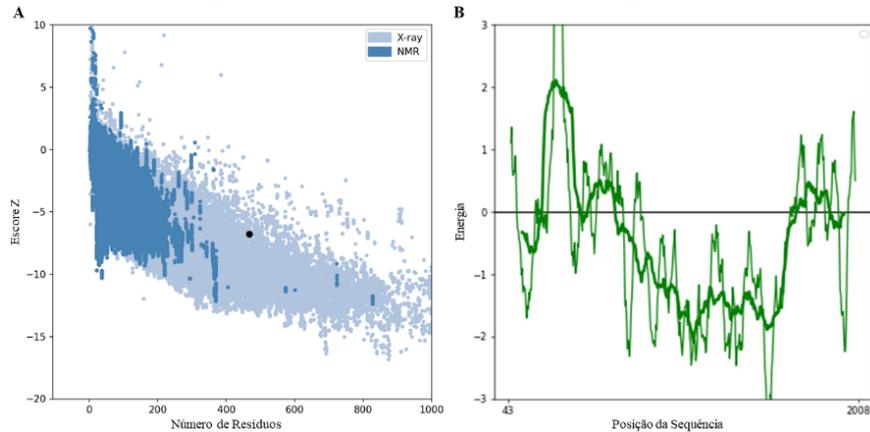
Fonte: extraída do servidor web PDB <<https://www.rcsb.org/3d-view/6W25/1>>, em fevereiro de 2024

4.8.1 Análise da qualidade do modelo gerado

O escore Z obtido (-6.75) pela plataforma ProSA-web garante a qualidade do modelo gerado para a proteína MC4R. Tal pontuação indica a qualidade geral do modelo e, através da interpretação e análise dos gráficos, é possível identificar que a pontuação Z obtida da estrutura do modelo está dentro da faixa esperada, isso estabelecido pela comparação com as demais proteínas nativas de tamanho semelhante já resolvidas.

Ainda, com a utilização da mesma plataforma citada, a qualidade é verificada por outro gráfico, neste os valores positivos são interpretados como partes problemáticas da estrutura. Levando em conta que a maior parte da estrutura se encontra dentro dos valores negativos, pode-se, novamente, confirmar a qualidade do modelo gerado (Figura 16).

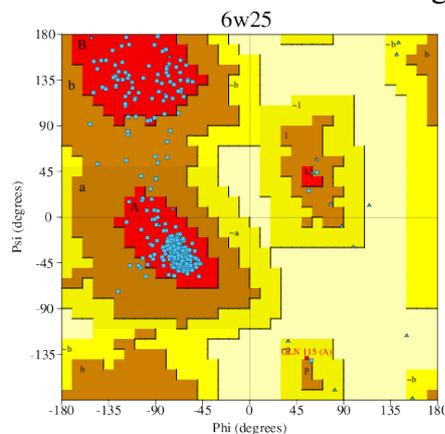
Figura 16 – Qualidade do modelo gerado



Legenda: Avaliação da qualidade do modelo gerado pela plataforma ProSA-web. (A) gráfico escore X; (B) gráfico de energia, gerado pelo ProSA-web.; (C) PROCHECK do modelo gerado, a partir do PDBSum, Fonte: elaborado pelo autor a partir do relatório do ProSA-web, 2023.

A qualidade do modelo ainda foi analisada pelo PROCHECK, gerado pelo PDBSum. O PROCHECK tem como utilidade verificar a qualidade estereoquímica de dada estrutura proteica, fornecendo um gráfico que permite a análise da geometria geral, a partir de todos os resíduos da proteína (Figura 17). A partir da avaliação gerada observou-se que 94,2% dos resíduos se encontravam em regiões mais favorecidas, as apresentadas em vermelho, e 5,6% em regiões adicionais permitidas, sendo as coloridas em marrom. Para critérios de interpretação, se espera que um modelo obtenha mais de 90% dos resíduos em regiões mais favorecidas, sendo assim, podemos aferir mais uma vez confirmar a qualidade e permitir a validação do modelo gerado, ou seja, é possível iniciar a preparação para o *docking*.

Figura 17 – PROCHECK do modelo gerado



Legenda: Em vermelho apresenta as regiões mais favoráveis, em marrom as regiões adicionais permitidas, em amarelo as regiões generosamente permitidas e em bege as regiões não permitidas. Os eixos Phi e Psi correspondem aos ângulos de torção de cada resíduo de aminoácido.

Fonte: elaborado pelo autor a partir do relatório do PDBSum, 2023.

4.8.2 Predições do perfil ADMET do ligante

Como mencionado no item anterior, 3.6.2, a estrutura do ligante setmelanotida selecionada foi obtida no PubChem (Canonical SMILES: CC1C(=O)NC(C(=O)NC(C(=O)NC(C(=O)NC(C(=O)NC(CSSCC(C(=O)N1)NC(=O)C(CCCN=C(N)N)NC(=O)C)C(=O)N)CC2=CNC3=CC=CC=C32)CCCN=C(N)N)CC4=CC=CC=C4)CC5=CN=CN5), tendo em vista que a estrutura, após a análise de qualidade, não apresentou erros de ligação ou estruturais.

Utilizando o SMILES foi possível avaliar o perfil ADMET da setmelanotida, para isso utilizou-se a plataforma SwissADME e AdmetLab

Tabela 14 – Perfil ADMET da setmelanotida

Propriedades físico-químicas		Servidor
Peso molecular (g/mol)	1117.31	SwissADME
Número de átomos pesados	78	SwissADME
Número de ligações rotativas	20	SwissADME
Número de aceptores de ligações de H	12	SwissADME
Número de doadores de ligações de H	15	SwissADME
TPSA (Å²)	499.76	SwissADME
Solubilidade em água		
Log S (ESOL)	-4.07	SwissADME
Log S	-7.46	SwissADME
Log S (SILICOS-IT)	-11.23	SwissADME
Lipofilicidade		
Log Po/w (iLOGP)	1.47	SwissADME
Log Po/w (XLOGP3)	-2.49	SwissADME
Log Po/w (WLOGP)	-5.46	SwissADME
Log Po/w (MLOGP)	-4.30	SwissADME
Consenso Log Po/w	-2.19	SwissADME
Farmacocinética		
Absorção gastrointestinal	Baixa	SwissADME
Substrato P-gp	Sim	SwissADME
CYP1A2 inibidor	Não	SwissADME
CYP3A4 inibidor	Não	SwissADME
CYP2C9 inibidor	Não	SwissADME
CYP2C19 inibidor	Não	SwissADME
CYP2D6 inibidor	Não	SwissADME
Toxicidade		
AMES (mutagenicidade)	---	AdmetLab
Sensibilização cutânea	---	AdmetLab
Carcinogenicidade	---	AdmetLab
DILI	---	AdmetLab

Legenda: TPAS: Área de superfície polar topológica; ESOL: Solubilidade estimada; SILICOS-IT: Solubilidade em água calculada pelo programa FILTER-IT; iLOGP: Log P implícito; XLOGP3: Lipofilicidade calculada pelo programa XLOG; WLOGP: Lipofilicidade aparente; MLOGP: Lipofilicidade calculada pelo método de Moriguchi; P-gp: Glicoproteína P; DILI: Lesão hepática induzida por drogas.

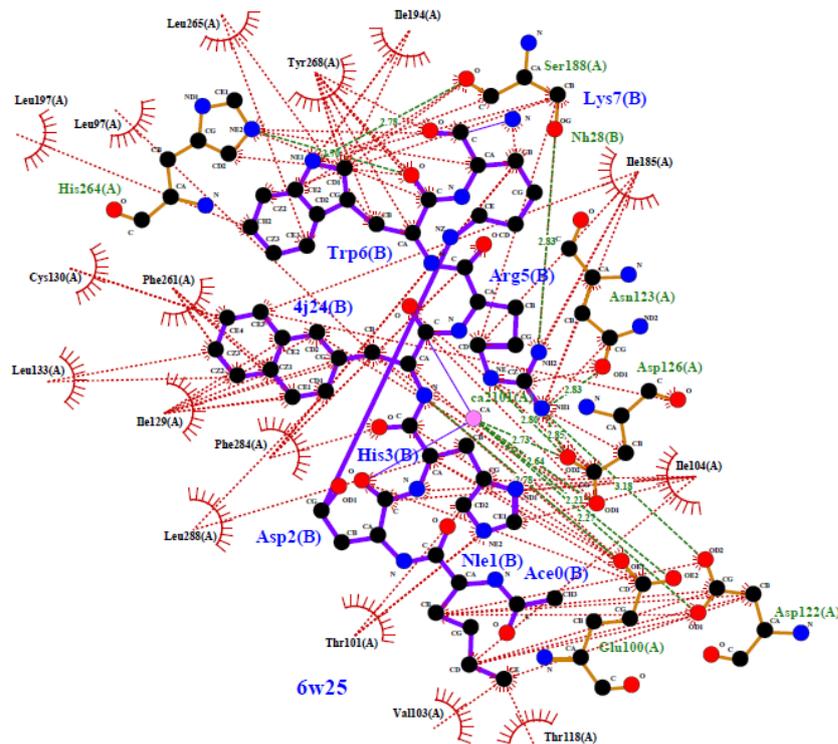
Fonte: Elaborado pelo autor pelas plataformas SwissADME e AdmetLab

Através da análise do perfil ADMET, podemos constatar que a setmelanotida é um fármaco insolúvel, com baixa absorção gastrointestinal, não sendo também inibidor das principais coenzimas observadas. Quanto à toxicidade, a setmelanotida não se apresentou tóxica nos 4 parâmetros descritos.

4.8.3 Análise da ligação entre proteína e o ligante

Após a confirmação da qualidade do modelo gerado, procedeu-se à análise da ligação proteína com o ligante (Figura 18), neste caso com a Setmelanotida. Dessa forma, é possível estabelecer as ligações de hidrogênio e as interações hidrofóbicas realizadas, bem como quais aminoácidos da estrutura proteica estão envolvidos.

Figura 18 – Representação das interações entre o ligante e a proteína



Legenda: as ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes e as interações hidrofóbicas são destacadas por linhas pontilhadas vermelhas.

Fonte: elaborada pelo autor utilizando a plataforma *LigPlot+*.

Com a análise das ligações feitas entre proteínas e ligante, pode-se aferir que 16 aminoácidos estão envolvidos na ligação do receptor com a Setmelanotida (p.Leu197, p.Leu97, p.Leu265, p.Tyr268, p.Ile194, p.Ile185, p.Ile104, p.Thr118, p.Val103, p.Thr101, p.Leu288, p.Phe284, p.Ile129, p.Leu133, p.Phe261 e p.Cys130).

Não foram encontradas, durante esta pesquisa, descrição de variantes nas posições p.Leu197, p.Leu97, p.Leu265, p.Tyr268, p.Ile194, p.Thr118, p.Leu288, p.Ile129 e p.Cys130. No entanto, p.Ile185, p.Ile104, p.Thr101, p.Phe284, p.Leu133 e p.Phe261, aparecem no Apêndice B, mas não foram analisadas porque não atenderam aos critérios de seleção do Apêndice F, apenas a variante p.Val103 aparece no Apêndice A e também nas Tabelas 1 e 2, já identificada como Patogênica/Benigna.

5 DISCUSSÃO

O MC4R é um dos principais integrantes que compõe a família dos receptores acoplados à proteína G que são uma classe importante de receptores transmembranares. Quando em sua forma ativada, após acoplamento de seu ligante, a cascata de sinalização provocada resulta, principalmente, na expressão de neuropeptídeos envolvidos na alimentação (Cui et al., 2012), ou seja, há uma sinalização de saciedade no indivíduo. O presente estudo se concentrou em investigar as implicações desses mecanismos em um contexto genético, explorando as variantes do gene *MC4*, a fim de contribuir para o desenvolvimento de estratégias personalizadas de tratamento baseadas em perfis genéticos individuais.

A obesidade emerge como uma condição complexa, resultante do excessivo acúmulo de tecido adiposo. Este fenômeno representa um dos principais desafios para a saúde pública tanto no Brasil quanto globalmente (Greenberg et al., 2011; Kiess et al., 2008; McLaren, 2007). Diversos fatores são apontados como possíveis impulsionadores desse processo, contribuindo para uma gama variada de complicações clínicas em diferentes graus (Apovian, 2016), destes fatores, estudos genéticos revelaram que variantes no gene *MC4r* desempenham um papel significativo como uma das principais causas da obesidade monogênica em seres humanos (Cone, 2006; Farooqi et al., 2003).

Muitos são os dados descritos em plataformas *web* para os genes e principais doenças que afetam os indivíduos. Para este trabalho optou-se pela seleção de duas plataformas de domínio público que agrupam as variantes descritas no *National Library of Medicine* e *National Center for Biotechnology Information*. As análises se deram utilizando como chave de pesquisa o próprio gene, para que se obtivesse, de uma forma mais ampla, a coleção de dados. Para tanto optou-se ainda pela aplicação do filtro *missense*, tendo em vista que grande parte das plataformas para a análise são voltadas a substituições de aminoácidos.

Em uma análise primária, conseguiu-se perceber que existe certa similaridade nos dados das duas plataformas, extraíndo-se 84 variantes *missense* no ClinVar e 350 no dbSNP, sendo 75 comuns nas duas plataformas. Para dar continuidade à pesquisa, foram selecionadas apenas as variantes com significado clínico incerto e interpretações conflitantes, tendo em vista que aquelas classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas, benignas ou provavelmente benignas já foram mais extensivamente estudadas e possuem metodologias estabelecidas para sua classificação.

As plataformas utilizadas para realizar a predição de substituições são recursos de curadoria e que auxiliam a interpretação de variantes, permitindo assim que se possa construir

um arquivo público capaz de documentar as relações existentes entre as variantes genômicas e os fenótipos (Harrison et al., 2016). Outros estudos já foram realizados com a finalidade de analisar SNPs não-sinônimos em genes associados à obesidade (Patnaik et al., 2023), neste estudo foram utilizados docking molecular e simulações para analisar a potencial capacidade de ligação de três polifenóis naturais: ácido rosmarínico, resveratrol e capsaicina. A ligação dessas três moléculas não foi afetada pelas mutações previstas.

Estudos semelhantes também foram realizados para a elucidação dos efeitos de variantes sinônimas (Zeng et al., 2021), este, permitiu a elaboração de um novo modelo (synVep) que se baseia em aprendizado de máquina para a avaliação do efeito de sSNVs humanos. O synVep não se utiliza de dados de treinamento rotulados como doenças/deletérias, e sim sinais derivados de sSNVs observados de projetos de sequenciamento.

Ainda, estudos desta natureza foram conduzidos em nosso laboratório, o primeiro relatando variantes do tipo *missense* em genes alvo com olhar voltado às mais relatadas no Brasil (Bratti et al., 2023), os nsSNPs avaliados demonstraram efeitos significativos na estrutura proteica e este estudo pode orientar o planejamento de experimentos de mutagênese direcionados a detalhar os nsSNPs deletérios em genes centrais relacionados à obesidade; o segundo estabelecendo relação de variantes genéticas relacionadas à ao receptor específico e sua ligação com fármaco, aferindo que abordagens personalizadas podem ser necessárias na prática ao considerar esses tratamentos (Knihs & Filippin-Monteiro, 2024).

A representação dos aminoácidos (Figuras 9 e 10 e Tabelas 5 e 6) nos mostra houve variações em todos os 20 aminoácidos e que não há diferença significativa entre eles antes e após a substituição. Para um maior entendimento da patogenicidade das variantes selecionadas, utilizou-se a plataforma PredictSNP para a seleção das variantes de interesse, para tanto optamos por um “filtro” já utilizados em outras pesquisas de nosso grupo (Bratti et al., 2023; Knihs & Filippin-Monteiro, 2024), estabelecendo que os resultados deletérios em mais de 50% das plataformas seria o suficiente para considerarmos ela como deletéria/patogênica.

As ferramentas I-mutant2.0 e MuPro foram utilizados para avaliação do impacto na estabilidade da proteína, através da análise da mudança na energia livre, estabelecem o índice de confiabilidade. Para as variantes do ClinVar, os resultados das plataformas foram similares na maioria dos casos, apenas discordando em 3 das variantes (p.Ser295Pro, p.Ala259Val e p.Tyr80Cys), já para as variantes do dbSNP, ambas as plataformas forneceram concordância de 100% das análises, aferindo que há uma diminuição na estabilidade da proteína.

A análise da conservação evolutiva permitiu entender o quanto as variantes podem estar em locais conservados da proteína, identificando de um modo mais fácil as regiões com maior

papel na conservação. Em ambas as plataformas, dbSNP e ClinVar, obteve-se pontuações acima de 5, indicando que as variantes selecionadas e analisadas eram realmente importantes tendo em vista o estado de conservação da proteína (Rubin & Ben-Tal, 2021).

As últimas análises realizadas tiveram como objetivo gerar o modelo do receptor, gerado pela plataforma SwissModel, para realizar sua dockagem com o ligante, a setmelanotida. A qualidade do modelo foi analisada utilizando plataformas distintas. Como uma forma de produzir dados que corroborem a análise feita, tanto a plataforma ProSA-web, que realiza sua interpretação por intermédio de análise e interpretação de dados, quanto a PROCHEK (gerada na PDBSun), que verifica a qualidade estereoquímica da estrutura proteica, foram capazes de assegurar que o modelo está em boas qualidades para a análise do docking molecular.

A setmelanotida, fármaco que já possui liberação para comercialização pela associação Americana Food and Drug Administration (FDA) (Markham, 2021), foi analisada quanto ao seu perfil ADMET. Pode-se verificar que é um fármaco insolúvel, não sendo inibidor das coenzimas observadas (CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 e CYP2D6), apresentando ainda baixa absorção intestinal. A mesma não apresenta toxicidade para os 4 parâmetros vistos (mutagenicidade, carcinogenicidade, lesão hepática induzida por drogas e sensibilização cutânea).

Tendo a confirmação da qualidade do modelo e estrutura do ligante, analisou-se a ligação entre ambos, sendo possível determinar quais aminoácidos da estrutura proteica estabelecem ligações de hidrogênio e ligações hidrofóbicas com a Setmelanotida. Dos 16 aminoácidos que fazem ligação com o receptor (p.Leu197, p.Leu96, p.Leu265, p.Tyr268, p.Ile194, p. Ile185, p. .Ile104, p.Thr118, p.Val103, p.Thr101, p.Leu288, p.Phe284, p.Ile129, p.Leu133, p.Phe261 e p.Cys130), nenhum deles está relacionado com os aminoácidos contidos nas tabelas finais (Tabelas 7 em diante).

Avaliando os dados contidos na literatura (N. Heyder et al., 2019), percebe-se que alguns dos aminoácidos que fazem ligação com o agonista alfa-MSH são os mesmos que fazem ligação com a setmelanotida (p.Leu288, p.Phe261 e p.Tyr268). Ainda que as variantes analisadas e que apresentaram possíveis efeitos deletérios não estejam correlacionadas diretamente com a ligação da setmelanotida ou alfa-MSH, é necessário observar a sua proximidade dos aminoácidos envolvidos.

6 CONCLUSÕES

Foram encontradas diversas variantes associadas ao *MC4r*, mas nem todas causam efeitos deletérios na proteína;

Este estudo permitiu a redução a uma lista específica (Tabela 15) de variantes que podem ser mais bem estudadas e compreendidas em termos de seus efeitos sobre a proteína MC4R;

Tabela 15 – Variantes identificadas como importantes pelas análises

Identificador	Troca de aminoácido	Plataforma
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	p.Arg310Lys	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	p.Arg305Gln	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	p.Arg305Trp	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.890T>A (p.Ile297Asn)	p.Ile297Asn	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.883T>C (p.Ser295Pro)	p.Ser295Pro	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.880A>C (p.Asn294His)	p.Asn294His	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	p.Tyr276Cys	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	p.Pro272Arg	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	p.Ile269Asn	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	p.Ala259Val	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	p.Leu250Gln	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	p.Ile226Thr	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	p.Met215Ile	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.239A>G (p.Tyr80Cys)	p.Tyr80Cys	ClinVar
NM_005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	p.Leu54Pro	ClinVar
NP_005903.2:p.Ile269Asn	p.Ile269Asn	dbSNP
NP_005903.2:p.Val95Phe	p.Val95Phe	dbSNP
NP_005903.2:p.Ile137Thr	p.Ile137Thr	dbSNP
NP_005903.2:p.Phe82Leu	p.Phe82Leu	dbSNP
NP_005903.2:p.His76Arg	p.His76Arg	dbSNP
NP_005903.2:p.Met241Thr	p.Met241Thr	dbSNP
NP_005903.2:p.Met79Ile	p.Met79Ile	dbSNP
NP_005903.2:p.Ser190Gly	p.Ser190Gly	dbSNP
NP_005903.2:p.Ser139Arg	p.Ser139Arg	dbSNP
NP_005903.2:p.Gly252Asp	p.Gly252Asp	dbSNP

Fonte: elaborada pelo autor

As variantes analisadas não se encontram no local de ligação do ligante, como a Setmelanotida, mesmo assim, sugere-se que a substituição de aminoácidos pode ser prejudicial à função da proteína;

Estudos futuros focados na análise dessas variantes específicas podem elucidar o nível de comprometimento do receptor MC4R e sua influência na conformação da proteína;

A compreensão detalhada das variantes do *MC4r* pode contribuir significativamente para a regulação de comportamentos alimentares e desenvolvimento de terapias personalizadas para a obesidade.

Esta pesquisa ressalta a importância da análise de variantes genéticas na abordagem de medicina personalizada, oferecendo insights para intervenções terapêuticas mais eficazes baseadas no perfil genético individual.

REFERÊNCIAS

- A Hinney, A Schmidt, K Nottebom, O Heibült, I Becker, A Ziegler, G Gerber, M Sina, T Görg, H Mayer, W Siegfried, M Fichter, H Remschmidt, & J Hebebrand. (1999). Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *84*(4), 1483–1486.
- AlZaim, I., de Rooij, L. P. M. H., Sheikh, B. N., Börgeson, E., & Kalucka, J. (2023). The evolving functions of the vasculature in regulating adipose tissue biology in health and obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, *19*(12), 691–707. <https://doi.org/10.1038/s41574-023-00893-6>
- Apovian, C. M. (2016). Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. In *The American journal of managed care* (Vol. 22, Issue 7).
- Arner, P., & Spalding, K. L. (2010). Fat cell turnover in humans. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *396*(1), 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.165>
- Ayers, K. L., Glicksberg, B. S., Garfield, A. S., Longerich, S., White, J. A., Yang, P., Du, L., Chittenden, T. W., Gulcher, J. R., Roy, S., Fiedorek, F., Gottesdiener, K., Cohen, S., North, K. E., Schadt, E. E., Li, S. D., Chen, R., & Van der Ploeg, L. H. T. (2018). Melanocortin 4 Receptor Pathway Dysfunction in Obesity: Patient Stratification Aimed at MC4R Agonist Treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *103*(7), 2601–2612. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-00258>
- Baldini, G., & Phelan, K. D. (2019). The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. In *Journal of Endocrinology* (Vol. 241, Issue 1, pp. R1–R33). BioScientifica Ltd. <https://doi.org/10.1533/JOE-18-0596>
- Bendl, J., Stourac, J., Salanda, O., Pavelka, A., Wieben, E. D., Zendulka, J., Brezovsky, J., & Damborsky, J. (2014). PredictSNP: Robust and Accurate Consensus Classifier for Prediction of Disease-Related Mutations. *PLoS Computational Biology*, *10*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003440>
- Branson, R., Potoczna, N., Kral, J. G., Lentes, K.-U., Hoehe, M. R., & Horber, F. F. (2003). Binge Eating as a Major Phenotype of Melanocortin 4 Receptor Gene Mutations. In *N Engl J Med* (Vol. 12, Issue 20). www.nejm.org
- Bratti, L. de O. S., Nunes, B. F., Gorges, D. M., & Filippin-Monteiro, F. B. (2023). In silico approach to identify non-synonymous missense variants in human obesity-related genes:

- Comprehensive analyses in variants reported in Brazilian databases. *Human Gene*, 36, 201174. <https://doi.org/10.1016/j.humgen.2023.201174>
- Capriotti, E., Fariselli, P., & Casadio, R. (2005). I-Mutant2.0: Predicting stability changes upon mutation from the protein sequence or structure. *Nucleic Acids Research*, 33(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1093/nar/gki375>
- Caruso, V., Lagerström, M. C., Olszewski, P. K., Fredriksson, R., & Schiöth, H. B. (2014). Synaptic changes induced by melanocortin signalling. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(2), 98–110. <https://doi.org/10.1038/nrn3657>
- Cheng, J., Randall, A., & Baldi, P. (2006). Prediction of protein stability changes for single-site mutations using support vector machines. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 62(4), 1125–1132. <https://doi.org/10.1002/prot.20810>
- Clément, K., Biebermann, H., Farooqi, I. S., Van Der Ploeg, L., Wolters, B., Poitou, C., Puder, L., Fiedorek, F., Gottesdiener, K., Kleinau, G., Heyder, N., Scheerer, P., Blume-Peytavi, U., Jahnke, I., Sharma, S., Mokrosinski, J., Wiegand, S., Müller, A., Weiß, K., ... Kühnen, P. (2018). MC4R agonism promotes durable weight loss in patients with leptin receptor deficiency. *Nature Medicine*, 24(5), 551–555. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0015-9>
- Clement, K., Boutin, P., & Froguel, P. (2002). *Genetics of Obesity*.
- Clément, K., van den Akker, E., Argente, J., Bahm, A., Chung, W. K., Connors, H., De Waele, K., Farooqi, I. S., Gonneau-Lejeune, J., Gordon, G., Kohlsdorf, K., Poitou, C., Puder, L., Swain, J., Stewart, M., Yuan, G., Wabitsch, M., Kühnen, P., Pigeon-Kherchiche, P., ... Yuan, G. (2020). Efficacy and safety of setmelanotide, an MC4R agonist, in individuals with severe obesity due to LEPR or POMC deficiency: single-arm, open-label, multicentre, phase 3 trials. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 8(12), 960–970. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30364-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30364-8)
- Cone, R. D. (2006). Studies on the physiological functions of the melanocortin system. In *Endocrine Reviews* (Vol. 27, Issue 7). <https://doi.org/10.1210/er.2006-0034>
- Cui, H., Mason, B. L., Lee, C., Nishi, A., Elmquist, J. K., & Lutter, M. (2012). Melanocortin 4 receptor signaling in dopamine 1 receptor neurons is required for procedural memory learning. *Physiology and Behavior*, 106(2). <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.01.025>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Dubern, B. (2019). [Genetics and epigenetics of obesity: keys to understand]. *La Revue Du Praticien*, 69(9), 1016–1019.

- Farooqi, I. S., Keogh, J. M., Yeo, G. S. H., Lank, E. J., Cheetham, T., & O’Rahilly, S. (2003). Clinical Spectrum of Obesity and Mutations in the Melanocortin 4 Receptor Gene. *New England Journal of Medicine*, *348*(12). <https://doi.org/10.1056/nejmoa022050>
- Giles S.H. Yeo, I. Sadaf Farooqi, Shiva Aminian, David J. Halsall, Richard G. Stanhope, & Stephen O’Rahilly. (1998). A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nature Genetics*, *20*, 111–112.
- Glas, E., Mückter, H., Gudermann, T., & Breit, A. (2016). Exchange factors directly activated by cAMP mediate melanocortin 4 receptor-induced gene expression. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep32776>
- Gonçalves, J. P. L., Palmer, D., & Meldal, M. (2018). MC4R Agonists: Structural Overview on Antiobesity Therapeutics. *Trends in Pharmacological Sciences*, *39*(4), 402–423. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.01.004>
- Greenberg, A. S., Coleman, R. A., Kraemer, F. B., McManaman, J. L., Obin, M. S., Puri, V., Yan, Q. W., Miyoshi, H., & Mashek, D. G. (2011). The role of lipid droplets in metabolic disease in rodents and humans. In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 121, Issue 6). <https://doi.org/10.1172/JCI46069>
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, *4*(8). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
- Harrison, S. M., Riggs, E. R., Maglott, D. R., Lee, J. M., Azzariti, D. R., Niehaus, A., Ramos, E. M., Martin, C. L., Landrum, M. J., & Rehm, H. L. (2016). Using ClinVar as a Resource to Support Variant Interpretation. *Current Protocols in Human Genetics*, *89*(1). <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0816s89>
- Heyder, N. A., Kleinau, G., Speck, D., Schmidt, A., Paisdzior, S., Szczepek, M., Bauer, B., Koch, A., Gallandi, M., Kwiatkowski, D., Bürger, J., Mielke, T., Beck-Sickinger, A. G., Hildebrand, P. W., Spahn, C. M. T., Hilger, D., Schacherl, M., Biebermann, H., Hilal, T., ... Scheerer, P. (2021). Structures of active melanocortin-4 receptor–Gs-protein complexes with NDP- α -MSH and setmelanotide. *Cell Research*, *31*(11), 1176–1189. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00569-8>
- Heyder, N., Kleinau, G., Szczepek, M., Kwiatkowski, D., Speck, D., Soletto, L., Cerdá-Reverter, J. M., Krude, H., Kühnen, P., Biebermann, H., & Scheerer, P. (2019). Signal Transduction and Pathogenic Modifications at the Melanocortin-4 Receptor: A Structural Perspective. *Frontiers in Endocrinology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00515>

- Kiess, W., Petzold, S., Töpfer, M., Garten, A., Blüher, S., Kapellen, T., Körner, A., & Kratzsch, J. (2008). Adipocytes and adipose tissue. In *Best Practice and Research in Clinical Endocrinology and Metabolism* (Vol. 22, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.beem.2007.10.002>
- Kleinau, G., Heyder, N. A., Tao, Y.-X., & Scheerer, P. (2020). Structural Complexity and Plasticity of Signaling Regulation at the Melanocortin-4 Receptor. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(16), 5728. <https://doi.org/10.3390/ijms21165728>
- Knihs, V. M., & Filippin-Monteiro, F. B. (2024). GLP1R (glucagon-like-peptide-1 incretin receptor), diabetes and obesity phenotypes: An in silico approach revealed new pathogenic variants. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, *18*(2), 102956. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2024.102956>
- Kühnen, P., Clément, K., Wiegand, S., Blankenstein, O., Gottesdiener, K., Martini, L. L., Mai, K., Blume-Peytavi, U., Grüters, A., & Krude, H. (2016). Proopiomelanocortin Deficiency Treated with a Melanocortin-4 Receptor Agonist. *New England Journal of Medicine*, *375*(3), 240–246. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1512693>
- Kumar, D., Mains, R. E., & Eipper, B. A. (2016). 60 YEARS OF POMC: From POMC and α -MSH to PAM, molecular oxygen, copper, and vitamin C. *Journal of Molecular Endocrinology*, *56*(4), T63–T76. <https://doi.org/10.1530/JME-15-0266>
- Laskowski, R. A., Jabłońska, J., Pravda, L., Vařeková, R. S., & Thornton, J. M. (2018). PDBsum: Structural summaries of PDB entries. *Protein Science*, *27*(1), 129–134. <https://doi.org/10.1002/pro.3289>
- Lau, E., Freitas, P., Oliveira, A. I., & Carvalho, D. (2014). A leptina e o seu impacto metabólico nas lipodistrofias. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*, *9*(1), 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.rpedm.2014.03.003>
- Li, B., Krishnan, V. G., Mort, M. E., Xin, F., Kamati, K. K., Cooper, D. N., Mooney, S. D., & Radivojac, P. (2009). Automated inference of molecular mechanisms of disease from amino acid substitutions. *Bioinformatics*, *25*(21), 2744–2750. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp528>
- Lotta, L. A., Mokrosiński, J., Mendes de Oliveira, E., Li, C., Sharp, S. J., Luan, J., Brouwers, B., Ayinampudi, V., Bowker, N., Kerrison, N., Kaimakis, V., Houlton, D., Stewart, I. D., Wheeler, E., Day, F. R., Perry, J. R. B., Langenberg, C., Wareham, N. J., & Farooqi, I. S. (2019a). Human Gain-of-Function MC4R Variants Show Signaling Bias and Protect against Obesity. *Cell*, *177*(3), 597–607.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.044>
- Lotta, L. A., Mokrosiński, J., Mendes de Oliveira, E., Li, C., Sharp, S. J., Luan, J., Brouwers, B., Ayinampudi, V., Bowker, N., Kerrison, N., Kaimakis, V., Houlton, D., Stewart, I. D.,

- Wheeler, E., Day, F. R., Perry, J. R. B., Langenberg, C., Wareham, N. J., & Farooqi, I. S. (2019b). Human Gain-of-Function MC4R Variants Show Signaling Bias and Protect against Obesity. *Cell*, *177*(3), 597-607.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.044>
- Markham, A. (2021). Setmelanotide: First Approval. In *Drugs* (Vol. 81, Issue 3, pp. 397–403). Adis. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01470-9>
- Mastrandrea, L. D., Witten, L., Carlsson Petri, K. C., Hale, P. M., Hedman, H. K., & Riesenberg, R. A. (2019). Liraglutide effects in a paediatric (7-11 y) population with obesity: A randomized, double-blind, placebo-controlled, short-term trial to assess safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Pediatric Obesity*, *14*(5). <https://doi.org/10.1111/ijpo.12495>
- McDuffie, J. R., Calis, K. A., Uwaifo, G. I., Sebring, N. G., Fallon, E. M., Hubbard, V. S., & Yanovski, J. A. (2002). Three-month tolerability of orlistat in adolescents with obesity-related comorbid conditions. *Obesity Research*, *10*(7), 642–650. <https://doi.org/10.1038/oby.2002.87>
- McLaren, L. (2007). Socioeconomic status and obesity. In *Epidemiologic Reviews* (Vol. 29, Issue 1, pp. 29–48). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxm001>
- Myers, M. G., Cowley, M. A., & Münzberg, H. (2008). Mechanisms of leptin action and leptin resistance. In *Annual Review of Physiology* (Vol. 70, pp. 537–556). <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100707>
- Ng, P. C., & Henikoff, S. (2001). Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Research*, *11*(5), 863–874. <https://doi.org/10.1101/gr.176601>
- Panaro, B. L., & Cone, R. D. (2013). Melanocortin-4 receptor mutations paradoxically reduce preference for palatable foods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(17), 7050–7055. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304707110>
- Patnaik, D., Jena, A. B., Kerry, R. G., & Duttaroy, A. K. (2023). In silico profiling of nonsynonymous SNPs of fat mass and obesity-associated gene: possible impacts on the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Lipids in Health and Disease*, *22*(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12944-023-01782-7>
- Poitou, C., Coussieu, C., Rouault, C., Coupaye, M., Canello, R., Bedel, J. F., Gouillon, M., Bouillot, J. L., Oppert, J. M., Basdevant, A., & Clément, K. (2006). Serum amyloid A: A marker of adiposity-induced low-grade inflammation but not of metabolic status. *Obesity*, *14*(2), 309–318. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.40>
- Poitou, C., Viguerie, N., Canello, R., De Matteis, R., Cinti, S., Stich, V., Coussieu, C., Gauthier, E., Courtine, M., Zucker, J. D., Barsh, G. S., Saris, W., Bruneval, P., Basdevant, A., Langin, D., & Clément, K. (2005). Serum amyloid A: Production by human white adipocyte

- and regulation by obesity and nutrition. *Diabetologia*, 48(3), 519–528. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1654-6>
- Polyzos, S. A., Goulis, D. G., Giouleme, O., Germanidis, G. S., & Goulas, A. (2022). Anti-obesity Medications for the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Current Obesity Reports*, 11(3), 166–179. <https://doi.org/10.1007/s13679-022-00474-0>
- Rask-Andersen, M., Karlsson, T., Ek, W. E., & Johansson, Å. (2017). Gene-environment interaction study for BMI reveals interactions between genetic factors and physical activity, alcohol consumption and socioeconomic status. *PLoS Genetics*, 13(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006977>
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., & Rehm, H. L. (2015). 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. *Genetics in Medicine*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Roman Laskowski, B. A., Macarthur, M. W., & Thornton, J. M. (1983). Computer Programs PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. In *Phys. Status Solidi B* (Vol. 13).
- Rubin, M., & Ben-Tal, N. (2021). Using ConSurf to Detect Functionally Important Regions in RNA. *Current Protocols*, 1(10). <https://doi.org/10.1002/cpz1.270>
- Ryan, D. H. (2020). Setmelanotide: what does it mean for clinical care of patients with obesity? *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 8(12), 933–935. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30366-1](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30366-1)
- Sakers, A., De Siqueira, M. K., Seale, P., & Villanueva, C. J. (2022). Adipose-tissue plasticity in health and disease. *Cell*, 185(3), 419–446. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.016>
- Saúde. Ministério da. (2023). *Vigitel Brasil 2023: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2023*. www.saude.gov.br/svs
- Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. In *Comptes Rendus - Biologies* (Vol. 340, Issue 2, pp. 87–108). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.11.007>
- Smith, A. I., & Funder, J. W. (1988). *Proopiomelanocortin Processing in the Pituitary, Central Nervous System, and Peripheral Tissues*. <https://academic.oup.com/edrv/article/9/1/159/2548909>

- Srinivasan, S., Lubrano-Berthelier, C., Govaerts, C., Picard, F., Santiago, P., Conklin, B. R., & Vaisse, C. (2004). Constitutive activity of the melanocortin-4 receptor is maintained by its N-terminal domain and plays a role in energy homeostasis in humans. *Journal of Clinical Investigation*, *114*(8), 1158–1164. <https://doi.org/10.1172/JCI21927>
- Studer, G., Rempfer, C., Waterhouse, A. M., Gumienny, R., Haas, J., & Schwede, T. (2019). QMEANDisCo-Distance Constraints Applied on Model Quality Estimation. *Structural Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz828/5614424>
- Styne, D. M., Arslanian, S. A., Connor, E. L., Farooqi, I. S., Murad, M. H., Silverstein, J. H., & Yanovski, J. A. (2017). Pediatric obesity-assessment, treatment, and prevention: An endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *102*(3), 709–757. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2573>
- Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., & Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 20, Issue 8, pp. 467–484). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0127-1>
- Tao, Y. X. (2010). The melanocortin-4 receptor: Physiology, pharmacology, and pathophysiology. In *Endocrine Reviews* (Vol. 31, Issue 4, pp. 506–543). <https://doi.org/10.1210/er.2009-0037>
- van der Klaauw, A. A., Keogh, J. M., Henning, E., Stephenson, C., Kelway, S., Trowse, V. M., Subramanian, N., O’Rahilly, S., Fletcher, P. C., & Farooqi, I. S. (2016). Divergent effects of central melanocortin signalling on fat and sucrose preference in humans. *Nature Communications*, *7*(1), 13055. <https://doi.org/10.1038/ncomms13055>
- Venselaar, H., te Beek, T. A. H., Kuipers, R. K. P., Hekkelman, M. L., & Vriend, G. (2010). Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics*, *11*. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548>
- Volaco, A., Cavalcanti, A. M., Filho, R. P., & Precoma, D. B. (2018). Socioeconomic Status: The Missing Link Between Obesity and Diabetes Mellitus? *Current Diabetes Reviews*, *14*(4). <https://doi.org/10.2174/1573399813666170621123227>
- Wang, L., Saint-Pierre, D. H., & Taché, Y. (2002). Peripheral ghrelin selectively increases Fos expression in neuropeptide Y – synthesizing neurons in mouse hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroscience Letters*, *325*(1), 47–51. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)00241-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)00241-0)
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F. T., De Beer, T. A. P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., & Schwede, T. (2018). SWISS-

- MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- WHO. (2022). *World health statistics 2022: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals*. <http://apps.who.int/bookorders>.
- Wiederstein, M., & Sippl, M. J. (2007). ProSA-web: Interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35(SUPPL.2). <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
- Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., Yin, M., Zeng, X., Wu, C., Lu, A., Chen, X., Hou, T., & Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W5–W14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>
- Yengo, L., Sidorenko, J., Kemper, K. E., Zheng, Z., Wood, A. R., Weedon, M. N., Frayling, T. M., Hirschhorn, J., Yang, J., & Visscher, P. M. (2018). Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700 000 individuals of European ancestry. *Human Molecular Genetics*, 27(20), 3641–3649. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy271>
- Zeng, Z., Aptekmann, A. A., & Bromberg, Y. (2021). Decoding the effects of synonymous variants. *Nucleic Acids Research*, 49(22), 12673–12691. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1159>

**APÊNDICE A – DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA CLINVAR UTILIZANDO COMO PALAVRA DE BUSCA MC4R,
APLICANDO O FILTRO “MISSENSE”**

Variação Localização	Troca de Aminoácido	Condição	Significado Clínico
NM_005912.3(MC4R):c.949A>T (p.Ile317Phe)	I317F	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.947T>G (p.Ile316Ser)	I316S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Obesidade	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.935C>G (p.Thr312Ser)	T312S	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	R310K	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	R305Q	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	R305W	não fornecido, Obesidade	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.902T>C (p.Ile301Thr)	I301T	não fornecido	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.896C>A (p.Pro299His)	P299H	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido, Obesidade	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.895C>T (p.Pro299Ser)	P299S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.890T>A (p.Ile297Asn)	I297N	não especificado	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.883T>C (p.Ser295Pro)	S295P	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Diabete monogênica	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.880A>C (p.Asn294His)	N294H	não especificado	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.847C>T (p.His283Tyr)	H283Y	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.838T>C (p.Phe280Leu)	F280L	Obesidade	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.836G>A (p.Cys279Tyr)	C279Y	Obesidade	Significado incerto

NM_005912.3(MC4R):c.835T>C (p.Cys279Arg)	C279R	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	Y276C	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não especificado	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.821A>G (p.Asn274Ser)	N274S	não fornecido, Obesidade	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	P272R	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.812G>A (p.Cys271Tyr)	C271Y	Obesidade	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.811T>C (p.Cys271Arg)	C271R	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	I269N	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não especificado, não fornecido,	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.779C>A (p.Pro260Gln)	P260Q	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	A259V	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.763G>A (p.Val255Ile)	V255I	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.757G>A (p.Val253Ile)	V253I	não especificado, Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.754G>A (p.Gly252Ser)	G252S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.751A>C (p.Ile251Leu)	I251L	Diabete monogênica, índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não especificado,	Benigno/Provavelmente Benigno
NM_005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	L250Q	Diabete monogênica, Obesidade	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.719A>G (p.Asn240Ser)	N240S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20,	Significado incerto

		Diabete monogênica, não fornecido	
NM_005912.3(MC4R):c.691G>A (p.Gly231Ser)	G231S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	I226T	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.656C>T (p.Ala219Val)	A219V	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.655G>T (p.Ala219Ser)	A219S	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	M215I	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.631C>G (p.Leu211Val)	L211V	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.606C>A (p.Phe202Leu)	F202L	Diabete monogênica, não especificado, não fornecido,	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.585C>G (p.Ile195Met)	I195M	não especificado	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.549G>C (p.Leu183Phe)	L183F	Obesidade hereditária	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.542G>A (p.Gly181Asp)	G181D	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.538T>C (p.Ser180Pro)	S180P	Obesidade	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.523G>A (p.Ala175Thr)	A175T	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não especificado, não fornecido,	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.508A>G (p.Ile170Val)	I170V	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.496G>A (p.Val166Ile)	V166I	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.494G>A (p.Arg165Gln)	R165Q	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Obesidade	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.493C>T (p.Arg165Trp)	R165W	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.487G>A (p.Val163Ile)	V163I	Doenças genéticas congênitas	Significado incerto

NM_005912.3(MC4R):c.485C>T (p.Thr162Ile)	T162I	não fornecido, índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.461C>T (p.Ala154Val)	A154V	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.449C>T (p.Thr150Ile)	T150I	Obesidade, autossômico dominante, índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido,	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.437A>T (p.Asp146Val)	D146V	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.422T>G (p.Leu141Arg)	L141R	Doenças genéticas congênitas	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.419T>C (p.Leu140Pro)	L140P	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.410T>C (p.Ile137Thr)	I137T	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.407C>T (p.Ser136Phe)	S136F	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.380C>T (p.Ser127Leu)	S127L	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido, Obesidade	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.374_375inv (p.Ile125Lys)		Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.373A>G (p.Ile125Val)	I125V	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.368A>G (p.Asn123Ser)	N123S	não fornecido	Provavelmente Benigno
NM_005912.3(MC4R):c.335C>T (p.Thr112Met)	T112M	não fornecido, índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Obesidade	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.307G>A (p.Val103Ile)	V103I	Diabete monogênica, Obesidade, não fornecido	Benigno
NM_005912.3(MC4R):c.305T>G (p.Ile102Ser)	I102S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.289A>G (p.Asn97Asp)	N97D	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.281G>A (p.Ser94Asn)	S94N	não fornecido	Provavelmente patogênico

NM_005912.3(MC4R):c.272T>G (p.Met91Arg)	M91R	Obesidade	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.268G>A (p.Asp90Asn)	D90N	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.258G>T (p.Leu86Phe)	L86F	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.239A>G (p.Tyr80Cys)	Y80C	não especificado, índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.235A>G (p.Met79Val)	M79V	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.227A>G (p.His76Arg)	H76R	não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.221A>T (p.Asn74Ile)	N74I	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.206T>G (p.Ile69Arg)	I69R	Obesidade, autossômico dominante	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.185A>G (p.Asn62Ser)	N62S	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.181G>A (p.Glu61Lys)	E61K	Obesidade, autossômico dominante, índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido	Patogênico/Provavelmente patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.172A>T (p.Ser58Cys)	S58C	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	L54P	Obesidade	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.148G>A (p.Val50Met)	V50M	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20	Patogênico
NM_005912.3(MC4R):c.127C>A (p.Gln43Lys)	Q43K	Obesidade	Provavelmente patogênico
NM_005912.2(MC4R):c.110A>T (p.Asp37Val)	D37V	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não especificado, Obesidade	Interpretações conflitantes de patogenicidade
NM_005912.3(MC4R):c.[105C>A;110A>T]	Y35*, D37V	Obesidade	Patogênico

NM_005912.3(MC4R):c.53G>T (p.Arg18Leu)	R18L	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, não fornecido	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.31A>G (p.Thr11Ala)	T11A	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Diabete monogênica	Significado incerto
NM_005912.3(MC4R):c.14C>A (p.Thr5Asn)	T5N	Índice de massa corporal quantitativo traço locus 20, Diabete monogênica	Significado incerto

A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: elaborada pelo autor, utilizando os dados extraídos da plataforma *ClinVar*.

**APÊNDICE B – DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA DBSNP UTILIZANDO
COMO PALAVRA DE BUSCA MC4R, APLICANDO O FILTRO “MISSENSE”**

ID da Variante	Variação	Troca de Aminoácido
rs2229616	NP_005903.2:p.Val103Ile	V (Val) > I (Ile)
rs13447325	NP_005903.2:p.Asp37Val	D (Asp) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Asp37Gly	D (Asp) > G (Gly)
rs13447329	NP_005903.2:p.Thr112Met	T (Thr) > M (Met)
	NP_005903.2:p.Thr112Arg	T (Thr) > R (Arg)
rs13447331	NP_005903.2:p.Ser127Leu	S (Ser) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Ser127Trp	S (Ser) > W (Trp)
rs13447332	NP_005903.2:p.Arg165Trp	R (Arg) > W (Trp)
	NP_005903.2:p.Arg165Gly	R (Arg) > G (Gly)
rs13447333	NP_005903.2:p.Gly181Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs52804924	NP_005903.2:p.Pro299Leu	P (Pro) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Pro299His	P (Pro) > H (His)
rs52820871	NP_005903.2:p.Ile251Leu	I (Ile) > L (Leu)
rs79783591	NP_005903.2:p.Ile269Asn	I (Ile) > N (Asn)
rs121913557	NP_005903.2:p.Val50Leu	V (Val) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Val50Met	V (Val) > M (Met)
rs121913558	NP_005903.2:p.Ser58Cys	S (Ser) > C (Cys)
rs121913559	NP_005903.2:p.Ile102Ser	I (Ile) > S (Ser)
	NP_005903.2:p.Ile102Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs121913560	NP_005903.2:p.Ile170Val	I (Ile) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Ile170Leu	I (Ile) > L (Leu)
rs121913561	NP_005903.2:p.Asn274Ser	N (Asn) > S (Ser)
rs121913562	NP_005903.2:p.Cys271Phe	C (Cys) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Cys271Tyr	C (Cys) > Y (Tyr)
rs121913563	NP_005903.2:p.Ala175Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs121913564	NP_005903.2:p.Ile316Ser	I (Ile) > S (Ser)
	NP_005903.2:p.Ile316Asn	I (Ile) > N (Asn)
rs121913565	NP_005903.2:p.Asn97Asp	N (Asn) > D (Asp)
rs121913566	NP_005903.2:p.Asn62Ser	N (Asn) > S (Ser)
rs121913567	NP_005903.2:p.Ala219Val	A (Ala) > V (Val)
rs138281308	NP_005903.2:p.Phe202Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs187152753	NP_005903.2:p.Val253Ile	V (Val) > I (Ile)
rs193922685	NP_005903.2:p.Ser180Pro	S (Ser) > P (Pro)
rs193922686	NP_005903.2:p.Ile226Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs202228712	NP_005903.2:p.Asn240Ser	N (Asn) > S (Ser)
rs368264587	NP_005903.2:p.Ser295Pro	S (Ser) > P (Pro)
rs369841551	NP_005903.2:p.Gln156Lys	Q (Gln) > K (Lys)
rs370479598	NP_005903.2:p.Glu61Lys	E (Glu) > K (Lys)
rs372794914	NP_005903.2:p.Thr11Ala	T (Thr) > A (Ala)
rs376439188	NP_005903.2:p.Leu54Pro	L (Leu) > P (Pro)
rs549442687	NP_005903.2:p.Arg305Trp	R (Arg) > W (Trp)
rs747681609	NP_005903.2:p.Arg165Gln	R (Arg) > Q (Gln)
rs748627503	NP_005903.2:p.Tyr276Cys	Y (Tyr) > C (Cys)
rs751160202	NP_005903.2:p.Ile69Arg	I (Ile) > R (Arg)
	NP_005903.2:p.Ile69Thr	I (Ile) > T (Thr)

rs752432398	NP_005903.2:p.Thr5Ile	T (Thr) > I (Ile)
	NP_005903.2:p.Thr5Asn	T (Thr) > N (Asn)
rs756232889	NP_005903.2:p.Phe280Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs756424832	NP_005903.2:p.Val255Phe	V (Val) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Val255Ile	V (Val) > I (Ile)
rs761982475	NP_005903.2:p.Asn123Ser	N (Asn) > S (Ser)
rs762825773	NP_005903.2:p.Ala259Val	A (Ala) > V (Val)
rs765147772	NP_005903.2:p.Asn294Asp	N (Asn) > D (Asp)
	NP_005903.2:p.Asn294His	N (Asn) > H (His)
rs766665118	NP_005903.2:p.Thr150Ile	T (Thr) > I (Ile)
	NP_005903.2:p.Thr150Ser	T (Thr) > S (Ser)
rs768687497	NP_005903.2:p.Met215Ile	M (Met) > I (Ile)
rs772213710	NP_005903.2:p.Ser94Asn	S (Ser) > N (Asn)
rs772393451	NP_005903.2:p.Leu250Gln	L (Leu) > Q (Gln)
rs775382722	NP_005903.2:p.Arg305Leu	R (Arg) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Arg305Gln	R (Arg) > Q (Gln)
rs778685158	NP_005903.2:p.Ile317Phe	I (Ile) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Ile317Val	I (Ile) > V (Val)
rs780671601	NP_005903.2:p.Arg18Leu	R (Arg) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Arg18His	R (Arg) > H (His)
rs942758928	NP_005903.2:p.Val166Ile	V (Val) > I (Ile)
rs1049385311	NP_005903.2:p.Ile297Thr	I (Ile) > T (Thr)
	NP_005903.2:p.Ile297Asn	I (Ile) > N (Asn)
rs1057517991	NP_005903.2:p.Cys271Arg	C (Cys) > R (Arg)
rs1250816750	NP_005903.2:p.His283Tyr	H (His) > Y (Tyr)
rs1363347811	NP_005903.2:p.Gly231Ser	G (Gly) > S (Ser)
rs1368643838	NP_005903.2:p.Tyr80Phe	Y (Tyr) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Tyr80Cys	Y (Tyr) > C (Cys)
rs1380965800	NP_005903.2:p.Ser136Phe	S (Ser) > F (Phe)
rs1429906794	NP_005903.2:p.Arg310Lys	R (Arg) > K (Lys)
rs1435358988	NP_005903.2:p.Pro260Leu	P (Pro) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Pro260Gln	P (Pro) > Q (Gln)
rs1555691402	NP_005903.2:p.Thr162Ile	T (Thr) > I (Ile)
rs1598932263	NP_005903.2:p.Ile125Val	I (Ile) > V (Val)
rs1915335064	NP_005903.2:p.Ile301Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs1915337291	NP_005903.2:p.Cys279Tyr	C (Cys) > Y (Tyr)
rs1915338291	NP_005903.2:p.Pro272Arg	P (Pro) > R (Arg)
rs1915344558	NP_005903.2:p.Ala219Ser	A (Ala) > S (Ser)
	NP_005903.2:p.Ala219Ser	A (Ala) > T (Thr)
rs1915346892	NP_005903.2:p.Ile195Met	I (Ile) > M (Met)
rs2143966570	NP_005903.2:p.Leu183Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs2143966795	NP_005903.2:p.Asp146Val	D (Asp) > V (Val)
rs2143967167	NP_005903.2:p.Asp90Asn	D (Asp) > N (Asn)
rs2143967182	NP_005903.2:p.Leu86Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs2143967235	NP_005903.2:p.Met79Val	M (Met) > V (Val)
rs52834737	Mesclado ao rs2229616	
rs17848587	Mesclado ao rs2229616	
rs1016862	NP_005903.2:p.Ile169Ser	I (Ile) > S (Ser)
rs2282556	NP_005903.2:p.Gly98Arg	G (Gly) > R (Arg)
rs13447323	NP_005903.2:p.Ser30Phe	S (Ser) > F (Phe)

rs13447326	NP_005903.2:p.Pro78Leu	P (Pro) > L (Leu)
rs13447327	NP_005903.2:p.Ser94Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs13447328	NP_005903.2:p.Val95Phe	V (Val) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Val95Ile	V (Val) > I (Ile)
rs13447330	NP_005903.2:p.Ile121Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs13447334	NP_005903.2:p.Pro230Leu	P (Pro) > L (Leu)
rs13447335	NP_005903.2:p.Ala244Val	A (Ala) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Ala244Gly	A (Ala) > G (Gly)
	NP_005903.2:p.Ala244Glu	A (Ala) > E (Glu)
rs13447336	NP_005903.2:p.Gly252Ser	G (Gly) > S (Ser)
rs13447337	NP_005903.2:p.Ile317Ser	I (Ile) > S (Ser)
	NP_005903.2:p.Ile317Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs62097821	NP_005903.2:p.Gly181Arg	G (Gly) > R (Arg)
rs74679969	NP_005903.2:p.Ala89Gly	A (Ala) > G (Gly)
rs76500026	NP_005903.2:p.Ala239Asp	A (Ala) > D (Asp)
rs138690991	NP_005903.2:p.Cys257Ser	C (Cys) > S (Ser)
rs140040360	NP_005903.2:p.Thr178Met	T (Thr) > M (Met)
rs141148170	NP_005903.2:p.Thr53Ile	T (Thr) > I (Ile)
rs142837166	NP_005903.2:p.Arg7His	R (Arg) > H (His)
rs146099234	NP_005903.2:p.Ser4Phe	S (Ser) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Ser4Tyr	S (Ser) > Y (Tyr)
rs147000967	NP_005903.2:p.Phe51Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs151102515	NP_005903.2:p.Ile137Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs188384098	NP_005903.2:p.Phe82Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs193213449	NP_005903.2:p.Tyr35Cys	Y (Tyr) > C (Cys)
rs199558727	NP_005903.2:p.His76Arg	H (His) > R (Arg)
rs200771015	NP_005903.2:p.Met241Thr	M (Met) > T (Thr)
rs201736647	NP_005903.2:p.Ala227Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs201813179	NP_005903.2:p.Pro275Ser	P (Pro) > S (Ser)
rs202029579	NP_005903.2:p.Leu207Val	L (Leu) > V (Val)
rs202081467	NP_005903.2:p.His158Arg	H (His) > R (Arg)
rs371201478	NP_005903.2:p.Glu308Val	E (Glu) > V (Val)
rs373881556	NP_005903.2:p.Ile251Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs375095163	NP_005903.2:p.Glu308Lys	E (Glu) > K (Lys)
rs376773982	NP_005903.2:p.Ala176Val	A (Ala) > V (Val)
rs528415193	NP_005903.2:p.Val145Ala	V (Val) > A (Ala)
rs532750731	NP_005903.2:p.Ile198Thr	I (Ile) > T (Thr)
	NP_005903.2:p.Ile198Asn	I (Ile) > N (Asn)
rs536312911	NP_005903.2:p.Met79Ile	M (Met) > I (Ile)
rs543153918	NP_005903.2:p.Ser190Gly	S (Ser) > G (Gly)
rs545718295	NP_005903.2:p.Leu31Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs551371840	NP_005903.2:p.Ser139Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs558155361	NP_005903.2:p.Gly252Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs574333723	NP_005903.2:p.Gly238Ser	G (Gly) > S (Ser)
rs745919097	NP_005903.2:p.Ala27Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs746393702	NP_005903.2:p.Val46Ala	V (Val) > A (Ala)
rs746906443	NP_005903.2:p.Met161Thr	M (Met) > T (Thr)
rs746959546	NP_005903.2:p.Ile137Val	I (Ile) > V (Val)
rs748913072	NP_005903.2:p.Ile169Val	I (Ile) > V (Val)
rs749070050	NP_005903.2:p.Ile57Leu	I (Ile) > L (Leu)

rs749222637	NP_005903.2:p.Leu247Met	L (Leu) > M (Met)
rs749768113	NP_005903.2:p.Arg18Cys	R (Arg) > C (Cys)
	NP_005903.2:p.Arg18Ser	R (Arg) > S (Ser)
rs749834711	NP_005903.2:p.Ser36Phe	S (Ser) > F (Phe)
rs749957300	NP_005903.2:p.Gly324Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs750396034	NP_005903.2:p.Ile63Phe	I (Ile) > F (Phe)
rs750835367	NP_005903.2:p.Ser171Ile	S (Ser) > I (Ile)
	NP_005903.2:p.Ser171Asn	S (Ser) > N (Asn)
rs750959864	NP_005903.2:p.Phe152Ser	F (Phe) > S (Ser)
	NP_005903.2:p.Gly238Val	G (Gly) > V (Val)
rs751428978	NP_005903.2:p.Gly238Ala	G (Gly) > A (Ala)
	NP_005903.2:p.Gly238Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs752031670	NP_005903.2:p.Met200Val	M (Met) > V (Val)
rs752298997	NP_005903.2:p.Ile143Val	I (Ile) > V (Val)
rs752424263	NP_005903.2:p.Ser270Phe	S (Ser) > F (Phe)
rs752660087	NP_005903.2:p.Pro260Ala	P (Pro) > A (Ala)
rs752820152	NP_005903.2:p.Ala234Val	A (Ala) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Ala234Asp	A (Ala) > D (Asp)
rs753796542	NP_005903.2:p.Arg7Cys	R (Arg) > C (Cys)
	NP_005903.2:p.Arg7Ser	R (Arg) > S (Ser)
rs754205197	NP_005903.2:p.Thr110Arg	T (Thr) > R (Arg)
rs754227294	NP_005903.2:p.Arg147Ser	R (Arg) > S (Ser)
rs754646857	NP_005903.2:p.Asp146His	D (Asp) > H (His)
	NP_005903.2:p.Asp146Asn	D (Asp) > N (Asn)
rs754799513	NP_005903.2:p.Gly34Val	G (Gly) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Gly34Ala	G (Gly) > A (Ala)
	NP_005903.2:p.Gly34Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs755818059	NP_005903.2:p.Ile195Ser	I (Ile) > S (Ser)
	NP_005903.2:p.Ile195Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs756438149	NP_005903.2:p.Ser171Gly	S (Ser) > G (Gly)
rs758068983	NP_005903.2:p.Ile102Val	I (Ile) > V (Val)
rs758160499	NP_005903.2:p.Ile291Ser	I (Ile) > S (Ser)
rs758426526	NP_005903.2:p.Arg236Cys	R (Arg) > C (Cys)
rs759028574	NP_005903.2:p.Leu263Ile	L (Leu) > I (Ile)
rs759904803	NP_005903.2:p.Met208Ile	M (Met) > I (Ile)
rs760199460	NP_005903.2:p.Asp298His	D (Asp) > H (His)
	NP_005903.2:p.Asp298Asn	D (Asp) > N (Asn)
rs760380326	NP_005903.2:p.Gln273His	Q (Gln) > H (His)
rs761322927	NP_005903.2:p.Gly38Arg	G (Gly) > R (Arg)
rs761529157	NP_005903.2:p.Thr11Ile	T (Thr) > I (Ile)
rs761855498	NP_005903.2:p.Ala154Val	A (Ala) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Ala154Asp	A (Ala) > D (Asp)
rs762251697	NP_005903.2:p.Ala303Pro	A (Ala) > P (Pro)
	NP_005903.2:p.Ala303Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs762757992	NP_005903.2:p.Lys71Arg	K (Lys) > R (Arg)
rs763327351	NP_005903.2:p.Ser329Phe	S (Ser) > F (Phe)
rs764197417	NP_005903.2:p.Phe201Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs764575014	NP_005903.2:p.Ser329Pro	S (Ser) > P (Pro)
rs765201271	NP_005903.2:p.Phe261Leu	F (Phe) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Phe261Ile	F (Phe) > I (Ile)

rs765520842	NP_005903.2:p.Leu15Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs765544256	NP_005903.2:p.Met208Val	M (Met) > V (Val)
rs765599719	NP_005903.2:p.Val179Ile	V (Val) > I (Ile)
rs765650289	NP_005903.2:p.Lys73Arg	K (Lys) > R (Arg)
rs765769471	NP_005903.2:p.Pro321Ser	P (Pro) > S (Ser)
rs766896933	NP_005903.2:p.Leu64Ile	L (Leu) > I (Ile)
rs768051051	NP_005903.2:p.Tyr153Cys	Y (Tyr) > C (Cys)
rs768916374	NP_005903.2:p.Tyr157Ser	Y (Tyr) > S (Ser)
rs769164724	NP_005903.2:p.His14Gln	H (His) > Q (Gln)
rs769365891	NP_005903.2:p.Arg220Ser	R (Arg) > S (Ser)
rs770469626	NP_005903.2:p.Ser25Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs770874431	NP_005903.2:p.Ile160Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs771382165	NP_005903.2:p.Tyr80His	Y (Tyr) > H (His)
	NP_005903.2:p.Tyr80Asn	Y (Tyr) > N (Asn)
rs772131442	NP_005903.2:p.Ser188Leu	S (Ser) > L (Leu)
rs773076641	NP_005903.2:p.Ala209Asp	A (Ala) > D (Asp)
rs773199277	NP_005903.2:p.Ile185Val	I (Ile) > V (Val)
rs773217210	NP_005903.2:p.Asn120Asp	N (Asn) > D (Asp)
rs774123955	NP_005903.2:p.Met215Arg	M (Met) > R (Arg)
	NP_005903.2:p.Met215Thr	M (Met) > T (Thr)
rs774600898	NP_005903.2:p.Val124Ile	V (Val) > I (Ile)
rs774918906	NP_005903.2:p.Leu304Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs775043984	NP_005903.2:p.Met218Thr	M (Met) > T (Thr)
	NP_005903.2:p.Met218Lys	M (Met) > K (Lys)
rs775933215	NP_005903.2:p.Asn72Ser	N (Asn) > S (Ser)
rs776032308	NP_005903.2:p.Tyr332His	Y (Tyr) > H (His)
rs776051881	NP_005903.2:p.Glu42Gln	E (Glu) > Q (Gln)
	NP_005903.2:p.Glu42Lys	E (Glu) > K (Lys)
rs776267117	NP_005903.2:p.Ile266Leu	I (Ile) > L (Leu)
rs776520178	NP_005903.2:p.Pro48Leu	P (Pro) > L (Leu)
rs768806551	NP_005903.2:p.Asp126Tyr	D (Asp) > Y (Tyr)
rs777389542	NP_005903.2:p.Tyr287Cys	Y (Tyr) > C (Cys)
rs777940806	NP_005903.2:p.Gly55Cys	G (Gly) > C (Cys)
	NP_005903.2:p.Gly55Ser	G (Gly) > S (Ser)
rs778632018	NP_005903.2:p.Gly32Glu	G (Gly) > E (Glu)
rs779140402	NP_005903.2:p.Ile235Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs779658706	NP_005903.2:p.Ile195Val	I (Ile) > V (Val)
rs780913404	NP_005903.2:p.Leu133Val	L (Leu) > V (Val)
rs868309222	NP_005903.2:p.Gly243Arg	G (Gly) > R (Arg)
rs905335629	NP_005903.2:p.His24Asn	H (His) > N (Asn)
rs926626133	NP_005903.2:p.Gly323Val	G (Gly) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Gly323Glu	G (Gly) > E (Glu)
rs939392402	NP_005903.2:p.Gly323Arg	G (Gly) > R (Arg)
rs940167950	NP_005903.2:p.Ser306Asn	S (Ser) > N (Asn)
rs954123325	NP_005903.2:p.Ser36Thr	S (Ser) > T (Thr)
rs960831118	NP_005903.2:p.Leu229Pro	L (Leu) > P (Pro)
rs961394506	NP_005903.2:p.Val56Ala	V (Val) > A (Ala)
rs979837739	NP_005903.2:p.Leu134Pro	L (Leu) > P (Pro)
rs992193764	NP_005903.2:p.Tyr320His	Y (Tyr) > H (His)
rs992501527	NP_005903.2:p.Met281Ile	M (Met) > I (Ile)

rs1006923386	NP_005903.2:p.Ala244Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs1009938037	NP_005903.2:p.Thr5Ser	T (Thr) > S (Ser)
rs1015296350	NP_005903.2:p.Asn72Lys	N (Asn) > K (Lys)
rs1029672666	NP_005903.2:p.Gly324Ser	G (Gly) > S (Ser)
rs1031819528	NP_005903.2:p.Cys293Gly	C (Cys) > G (Gly)
rs1044022939	NP_005903.2:p.Ala259Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs1052798926	NP_005903.2:p.Ser210Phe	S (Ser) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Ser210Cys	S (Ser) > C (Cys)
rs1056909320	NP_005903.2:p.Met91Thr	M (Met) > T (Thr)
	NP_005903.2:p.Met91Lys	M (Met) > K (Lys)
rs1157101126	NP_005903.2:p.Ala68Val	A (Ala) > V (Val)
rs1157656544	NP_005903.2:p.Thr312Ser	T (Thr) > S (Ser)
rs1159323398	NP_005903.2:p.Trp174Cys	W (Trp) > C (Cys)
rs1163674339	NP_005903.2:p.Val46Ile	V (Val) > I (Ile)
rs1167880919	NP_005903.2:p.Ala27Val	A (Ala) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Ala27Asp	A (Ala) > D (Asp)
rs1169237373	NP_005903.2:p.Met1Ile	M (Met) > I (Ile)
rs1177551304	NP_005903.2:p.Ala192Gly	A (Ala) > G (Gly)
rs1181535625	NP_005903.2:p.Tyr35His	Y (Tyr) > H (His)
rs1184375973	NP_005903.2:p.Asn240Asp	N (Asn) > D (Asp)
rs1184485471	NP_005903.2:p.Lys33Gln	K (Lys) > Q (Gln)
rs1186281942	NP_005903.2:p.Ser131Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs1190113963	NP_005903.2:p.Phe284Cys	F (Phe) > C (Cys)
rs1190636884	NP_005903.2:p.Ser132Cys	S (Ser) > C (Cys)
rs1191554117	NP_005903.2:p.Cys196Tyr	C (Cys) > Y (Tyr)
rs1198759731	NP_005903.2:p.Ala70Val	A (Ala) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Ala70Gly	A (Ala) > G (Gly)
rs1205226959	NP_005903.2:p.His6Tyr	H (His) > Y (Tyr)
rs1207320659	NP_005903.2:p.Ser12Pro	S (Ser) > P (Pro)
rs1207925887	NP_005903.2:p.Ile226Phe	I (Ile) > F (Phe)
rs1210126795	NP_005903.2:p.Leu263Pro	L (Leu) > P (Pro)
rs1213053983	NP_005903.2:p.Leu211Phe	L (Leu) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Leu211Val	L (Leu) > V (Val)
rs1215552316	NP_005903.2:p.His76Tyr	H (His) > Y (Tyr)
rs1217150149	NP_005903.2:p.Cys326Arg	C (Cys) > R (Arg)
rs1221641075	NP_005903.2:p.Leu75Val	L (Leu) > V (Val)
rs1228959826	NP_005903.2:p.Asp111Gly	D (Asp) > G (Gly)
rs1229770631	NP_005903.2:p.Cys138Phe	C (Cys) > F (Phe)
rs1230092433	NP_005903.2:p.Phe284Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs1230316014	NP_005903.2:p.Ser28Ile	S (Ser) > I (Ile)
rs1253353185	NP_005903.2:p.Gln156Arg	Q (Gln) > R (Arg)
	NP_005903.2:p.Gln156Pro	Q (Gln) > P (Pro)
rs1257532305	NP_005903.2:p.Lys314Thr	K (Lys) > T (Thr)
rs1261182695	NP_005903.2:p.Asn120Ser	N (Asn) > S (Ser)
rs1267063448	NP_005903.2:p.Lys73Asn	K (Lys) > N (Asn)
rs1270948834	NP_005903.2:p.Gly55Val	G (Gly) > V (Val)
	NP_005903.2:p.Gly55Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs1271243303	NP_005903.2:p.Ser77Leu	S (Ser) > L (Leu)
rs1284421361	NP_005903.2:p.Tyr332Cys	Y (Tyr) > C (Cys)
rs1305445780	NP_005903.2:p.Val228Phe	V (Val) > F (Phe)

	NP_005903.2:p.Val228Ile	V (Val) > I (Ile)
rs1310474452	NP_005903.2:p.Gly233Val	G (Gly) > V (Val)
rs1312173970	NP_005903.2:p.Met204Ile	M (Met) > I (Ile)
rs1316381133	NP_005903.2:p.Tyr302Phe	Y (Tyr) > F (Phe)
rs1316550628	NP_005903.2:p.Leu155Phe	L (Leu) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Leu155Val	L (Leu) > V (Val)
rs1320793661	NP_005903.2:p.Ser190Asn	S (Ser) > N (Asn)
rs1322814784	NP_005903.2:p.Gly39Glu	G (Gly) > E (Glu)
rs1326028718	NP_005903.2:p.Leu300Pro	L (Leu) > P (Pro)
rs1333658154	NP_005903.2:p.Thr246Asn	T (Thr) > N (Asn)
rs1341255215	NP_005903.2:p.Asp113Gly	D (Asp) > G (Gly)
rs1356210856	NP_005903.2:p.Glu42Asp	E (Glu) > D (Asp)
rs1356972268	NP_005903.2:p.Met1Val	M (Met) > V (Val)
rs1360504571	NP_005903.2:p.Ala68Ser	A (Ala) > S (Ser)
rs1367004987	NP_005903.2:p.Pro48Ser	P (Pro) > S (Ser)
rs1371133103	NP_005903.2:p.Asn26Lys	N (Asn) > K (Lys)
rs1373340959	NP_005903.2:p.Leu59Ser	L (Leu) > S (Ser)
rs1375424360	NP_005903.2:p.Asn26Asp	N (Asn) > D (Asp)
rs1378696771	NP_005903.2:p.Val278Leu	V (Val) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Val278Met	V (Val) > M (Met)
rs1390568397	NP_005903.2:p.Met218Val	M (Met) > V (Val)
rs1391341935	NP_005903.2:p.Leu286Trp	L (Leu) > W (Trp)
rs1399007729	NP_005903.2:p.Phe184Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs1403250146	NP_005903.2:p.Ile104Phe	I (Ile) > F (Phe)
rs1406378947	NP_005903.2:p.Gly8Ala	G (Gly) > A (Ala)
rs1408499850	NP_005903.2:p.Ala234Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs1413495797	NP_005903.2:p.Leu325Phe	L (Leu) > F (Phe)
	NP_005903.2:p.Leu325Ile	L (Leu) > I (Ile)
rs1420993856	NP_005903.2:p.Ser85Ile	S (Ser) > I (Ile)
rs1424513187	NP_005903.2:p.Leu290Gln	L (Leu) > Q (Gln)
rs1426984702	NP_005903.2:p.Met218Ile	M (Met) > I (Ile)
rs1427649826	NP_005903.2:p.Ser28Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs1428729829	NP_005903.2:p.Arg236Leu	R (Arg) > L (Leu)
	NP_005903.2:p.Arg236His	R (Arg) > H (His)
rs1436534935	NP_005903.2:p.Cys293Tyr	C (Cys) > Y (Tyr)
rs1439366696	NP_005903.2:p.Leu60Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs1439634703	NP_005903.2:p.Val67Ala	V (Val) > A (Ala)
rs1449916142	NP_005903.2:p.Leu133Ser	L (Leu) > S (Ser)
rs1450471008	NP_005903.2:p.Asp113Asn	D (Asp) > N (Asn)
rs1453861734	NP_005903.2:p.Val52Ala	V (Val) > A (Ala)
	NP_005903.2:p.Val52Glu	V (Val) > E (Glu)
rs1457910782	NP_005903.2:p.Tyr276His	Y (Tyr) > H (His)
rs1457998784	NP_005903.2:p.Leu64Ser	L (Leu) > S (Ser)
rs1466456688	NP_005903.2:p.Val179Ala	V (Val) > A (Ala)
rs1467792237	NP_005903.2:p.Phe261Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs1473006541	NP_005903.2:p.Glu49Ala	E (Glu) > A (Ala)
rs1474837484	NP_005903.2:p.Val95Gly	V (Val) > G (Gly)
	NP_005903.2:p.Val95Ala	V (Val) > A (Ala)
rs1474963770	NP_005903.2:p.Ala239Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs1479194121	NP_005903.2:p.Ala87Thr	A (Ala) > T (Thr)

rs1483418974	NP_005903.2:p.Gly34Cys NP_005903.2:p.Gly34Arg	G (Gly) > C (Cys) G (Gly) > R (Arg)
rs1485377383	NP_005903.2:p.Leu221Pro	L (Leu) > P (Pro)
rs1486192428	NP_005903.2:p.Met204Thr	M (Met) > T (Thr)
rs1486783810	NP_005903.2:p.His24Arg	H (His) > R (Arg)
rs1490702722	NP_005903.2:p.Phe262Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs1568178531	NP_005903.2:p.Met292Ile	M (Met) > I (Ile)
rs1568178691	NP_005903.2:p.Arg220Lys	R (Arg) > K (Lys)
rs1598932101	NP_005903.2:p.Ser191Thr	S (Ser) > T (Thr)
rs1598932270	NP_005903.2:p.Asn120Lys	N (Asn) > K (Lys)
rs1598932297	NP_005903.2:p.Ser109Asn	S (Ser) > N (Asn)
rs1598932339	NP_005903.2:p.Val93Gly	V (Val) > G (Gly)
rs1598932350	NP_005903.2:p.Asp90Gly	D (Asp) > G (Gly)
rs1598932401	NP_005903.2:p.Val65Met	V (Val) > M (Met)
rs1776848958	NP_005903.2:p.Thr105Ile	T (Thr) > I (Ile)
rs1915332198	NP_005903.2:p.Arg331Lys	R (Arg) > K (Lys)
rs1915332337	NP_005903.2:p.Ser330Ile	S (Ser) > I (Ile)
rs1915333800	NP_005903.2:p.Glu315Asp	E (Glu) > D (Asp)
rs1915333915	NP_005903.2:p.Lys314Glu	K (Lys) > E (Glu)
rs1915334009	NP_005903.2:p.Phe313Leu	F (Phe) > L (Leu)
rs1915335645	NP_005903.2:p.Ile296Val	I (Ile) > V (Val)
rs1915336499	NP_005903.2:p.Ile289Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs1915338812	NP_005903.2:p.Ile269Val	I (Ile) > V (Val)
rs1915339011	NP_005903.2:p.His264Arg	H (His) > R (Arg)
rs1915340159	NP_005903.2:p.Val256Phe	V (Val) > F (Phe)
rs1915340228	NP_005903.2:p.Val255Ala	V (Val) > A (Ala)
rs1915341130	NP_005903.2:p.Ile249Val	I (Ile) > V (Val)
rs1915341293	NP_005903.2:p.Thr248Ala	T (Thr) > A (Ala)
rs1915343133	NP_005903.2:p.Gly231Asp	G (Gly) > D (Asp)
rs1915343645	NP_005903.2:p.Leu229Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs1915344125	NP_005903.2:p.Arg225Met	R (Arg) > M (Met)
rs1915345726	NP_005903.2:p.Met208Thr	M (Met) > T (Thr)
rs1915346066	NP_005903.2:p.Met204Leu	M (Met) > L (Leu)
rs1915346327	NP_005903.2:p.Met200Thr	M (Met) > T (Thr)
rs1915346710	NP_005903.2:p.Ile198Val	I (Ile) > V (Val)
rs1915347191	NP_005903.2:p.Val193Ile	V (Val) > I (Ile)
rs1915349380	NP_005903.2:p.Ile173Met	I (Ile) > M (Met)
rs1915351887	NP_005903.2:p.Ile151Thr	I (Ile) > T (Thr)
rs1915352198	NP_005903.2:p.Tyr148His	Y (Tyr) > H (His)
rs1915352641	NP_005903.2:p.Ile143Ser	I (Ile) > S (Ser)
rs1915354506	NP_005903.2:p.Ser127Pro	S (Ser) > P (Pro)
rs1915355126	NP_005903.2:p.Ile121Leu	I (Ile) > L (Leu)
rs1915355549	NP_005903.2:p.Gln115His	Q (Gln) > H (His)
rs1915355681	NP_005903.2:p.Ala114Val	A (Ala) > V (Val)
rs1915356272	NP_005903.2:p.Ser109Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs1915357251	NP_005903.2:p.Thr101Ser	T (Thr) > S (Ser)
rs1915357319	NP_005903.2:p.Ser99Leu	S (Ser) > L (Leu)
rs1915357437	NP_005903.2:p.Gly98Glu	G (Gly) > E (Glu)
rs1915358632	NP_005903.2:p.Met91Ile	M (Met) > I (Ile)
rs1915358906	NP_005903.2:p.Val88Ala	V (Val) > A (Ala)

rs1915359215	NP_005903.2:p.Ile83Val	I (Ile) > V (Val)
rs1915360985	NP_005903.2:p.Val65Glu	V (Val) > E (Glu)
rs1915361645	NP_005903.2:p.Leu59Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs1915363184	NP_005903.2:p.Leu44Phe	L (Leu) > F (Phe)
rs1915363909	NP_005903.2:p.Cys40Arg	C (Cys) > R (Arg)
rs1915364068	NP_005903.2:p.Gly39Arg	G (Gly) > R (Arg)
rs1915364294	NP_005903.2:p.Asp37Tyr	D (Asp) > Y (Tyr)
rs1915365997	NP_005903.2:p.Ser25Arg	S (Ser) > R (Arg)
rs1915367482	NP_005903.2:p.Met9Leu	M (Met) > L (Leu)
rs1915368592	NP_005903.2:p.Ser4Ala	S (Ser) > A (Ala)
rs2143965988	NP_005903.2:p.Phe284Ile	F (Phe) > I (Ile)
rs2143966455	NP_005903.2:p.Leu205Gln	L (Leu) > Q (Gln)
rs2143966955	NP_005903.2:p.Asp122His	D (Asp) > H (His)
rs2143967037	NP_005903.2:p.Ser109Gly	S (Ser) > G (Gly)
rs2143967279	NP_005903.2:p.Ala70Thr	A (Ala) > T (Thr)
rs2143967443	NP_005903.2:p.Cys40Tyr	C (Cys) > Y (Tyr)
rs386510633	Mesclado ao rs1016862	
rs386563534	Mesclado ao rs2282556	

A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: elaborada pelo autor, utilizando os dados extraídos da plataforma *dbSNP*.

APÊNDICE C – REGRAS DE PONTUAÇÃO DA PLATAFORMA CLINVAR

Significado Clínico	Regras de Pontuação
Patogênico	1. 1 Muito Forte (PVS1) E a. ≥ 1 Forte (PS1–PS4) OU b. ≥ 2 Moderado (PM1–PM6) OU c. 1 Moderado (PM1–PM6) E 1 Suporte (PP1–PP5) OU d. ≥ 2 Suporte (PP1–PP5) 2. ≥ 2 Forte (PS1–PS4) OU 3. 1 Forte (PS1–PS4) E a. ≥ 3 Moderado (PM1–PM6) OU b. 2 Moderado (PM1–PM6) E ≥ 2 Suporte (PP1–PP5) OU c. 1 Moderado (PM1–PM6) E ≥ 4 Suporte (PP1–PP5)
Provavelmente Patogênico	1. 1 Muito Forte (PVS1) E 1 Moderado (PM1–PM6) OU 2. 1 Forte (PS1–PS4) E 1–2 Moderado (PM1–PM6) OU 3. 1 Forte (PS1–PS4) E ≥ 2 Suporte (PP1–PP5) OR 4. ≥ 3 Moderado (PM1–PM6) OU 5. 2 Moderado (PM1–PM6) E ≥ 2 Suporte (PP1–PP5) OU 6. 1 Moderado (PM1–PM6) E ≥ 4 Suporte (PP1–PP5)
Significado Incerto	As variantes devem ser classificadas como de significância incerta se outros critérios não forem atendidos ou se os critérios para benigno e patogênico forem contraditórios
Provavelmente Benigno	1. 1 Forte (BS1–BS4) E 1 Suporte (BP1–BP7) OU 2. ≥ 2 Suporte (BP1–BP7)
Benigno	1. 1 Independente (BA1) OU 2. ≥ 2 Forte (BS1–BS4)

Fonte: adaptado de RICHADS

APÊNDICE D – CLASSIFICAÇÃO DE PATOGENICIDADE DA PLATAFORMA CLINVAR

Evidência de Patogenicidade	Sigla	Descrição
Muito Forte	PVS1	Variante nula (nonsense, frameshift, canônico +/-1 ou 2 locais de splicing, códon de iniciação, deleção de um ou vários éxons) em um gene onde a perda de função (LOF) é um mecanismo conhecido da doença
Forte	PS1	Mesma alteração de aminoácidos que uma variante patogênica previamente estabelecida, independentemente da alteração de nucleotídeo
	PS2	De novo (maternidade e paternidade confirmadas) em paciente com a doença e sem histórico familiar
	PS3	Estudos funcionais bem estabelecidos in vitro ou in vivo que suportam um efeito prejudicial no gene ou produto gênico
	PS4	A prevalência da variante em indivíduos afetados é significativamente aumentada em comparação com a prevalência em controles
Moderada	PM1	Localizado em um hot spot mutacional e/ou domínio funcional crítico e bem estabelecido sem variação benigna
	PM2	Ausente dos controles (ou em frequência extremamente baixa se recessivo) em Exome Sequencing Project, 1000 Genomes ou ExAC
	PM3	Para distúrbios recessivos, detectados em trans com uma variante patogênica
	PM4	Mudanças no comprimento da proteína devido a deleções/inserções no quadro em uma região não repetida ou variantes de stop-loss
	PM5	Nova mudança de sentido errado em um resíduo de aminoácido onde uma mudança de sentido diferente determinada como patogênica já foi vista antes
	PM6	Assumida de novo, mas sem confirmação de paternidade e maternidade
Suporte	PP1	Co-segregação com doença em vários membros da família afetados em um gene definitivamente conhecido por causar a doença
	PP2	Variante <i>missense</i> em um gene que tem uma baixa taxa de variação <i>missense</i> benigna e onde variantes <i>missense</i> são um mecanismo comum de doença
	PP3	Múltiplas linhas de evidência computacional suportam um efeito deletério no gene ou produto gênico (conservação, evolução, impacto de splicing, etc)
	PP4	O fenótipo ou história familiar do paciente é altamente específico para uma doença com uma única etiologia genética

PP5 Fonte respeitável relata recentemente variante como patogênica, mas a evidência não está disponível para o laboratório realizar uma avaliação independente

Fonte: adaptado de RICHARDS.

APÊNDICE E - DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA CLINVAR CONSIDERADOS COM “SIGNIFICADO INCERTO” OU COM “INTERPRETAÇÕES CONFLITANTES DE PATOGENICIDADE”

Variação	PredictSNP	MAPP	PhD-SNP	PP-1	PP-2	SIFT	SNAP
NM_005912.3(MC4R):c.949A>T (p.Ile317Phe)	63% N	41% D	73% D	67% N	74% N	70% N	61% N
NM_005912.3(MC4R):c.935C>G (p.Thr312Ser)	72% D	76% D	58% N	59% D	63% D	53% D	59% D
NM_005912.3(MC4R):c.929G>A (p.Arg310Lys)	87% D	56% D	77% D	74% D	81% D	79% D	72% D
NM_005912.3(MC4R):c.914G>A (p.Arg305Gln)	87% D	86% D	88% D	74% D	65% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.913C>T (p.Arg305Trp)	87% D	66% D	61% D	74% D	81% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.895C>T (p.Pro299Ser)	87% D	72% D	82% D	59% D	68% D	79% D	81% D
NM_005912.3(MC4R):c.890T>A (p.Ile297Asn)	87% D	78% D	68% D	59% D	68% D	79% D	72% D
NM_005912.3(MC4R):c.883T>C (p.Ser295Pro)	87% D	86% D	88% D	59% D	40% D	79% D	72% D
NM_005912.3(MC4R):c.880A>C (p.Asn294His)	87% D	77% D	86% D	67% N	55% D	79% D	62% D
NM_005912.3(MC4R):c.847C>T (p.His283Tyr)	87% N	73% N	55% N	67% N	79% N	77% N	61% N
NM_005912.3(MC4R):c.836G>A (p.Cys279Tyr)	87% D	77% D	77% D	74% D	81% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.835T>C (p.Cys279Arg)	87% D	88% D	86% D	59% D	54% D	46% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.827A>G (p.Tyr276Cys)	72% D	68% N	58% D	74% D	68% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.821A>G (p.Asn274Ser)	74% N	65% N	68% N	67% N	40% D	61% N	50% N

NM_005912.3(MC4R):c.815C>G (p.Pro272Arg)	87% D	88% D	77% D	74% D	63% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.806T>A (p.Ile269Asn)	87% D	75% D	61% D	59% D	47% D	79% D	62% D
NM_005912.3(MC4R):c.776C>T (p.Ala259Val)	76% D	91% D	88% D	67% N	56% D	79% D	56% D
NM_005912.3(MC4R):c.763G>A (p.Val255Ile)	83% N	77% N	89% N	67% N	75% N	90% N	71% N
NM_005912.3(MC4R):c.757G>A (p.Val253Ile)	74% N	64% N	68% N	67% N	40% D	76% N	71% N
NM_005912.3(MC4R):c.754G>A (p.Gly252Ser)	72% D	57% D	68% D	67% N	68% D	79% D	62% D
NM_005912.3(MC4R):c.749T>A (p.Leu250Gln)	87% D	78% D	82% D	59% D	81% D	79% D	72% D
NM_005912.3(MC4R):c.719A>G (p.Asn240Ser)	83% N	85% N	72% N	67% N	87% N	90% N	55% N
NM_005912.3(MC4R):c.691G>A (p.Gly231Ser)	83% N	74% N	51% N	67% N	64% N	71% N	67% N
NM_005912.3(MC4R):c.677T>C (p.Ile226Thr)	87% D	86% D	59% D	59% D	60% D	79% D	72% D
NM_005912.3(MC4R):c.655G>T (p.Ala219Ser)	61% D	82% D	86% D	67% N	60% D	79% D	61% N
NM_005912.3(MC4R):c.645G>A (p.Met215Ile)	61% D	77% D	58% N	67% N	65% D	79% D	85% N
NM_005912.3(MC4R):c.631C>G (p.Leu211Val)	61% D	84% D	66% N	67% N	60% D	79% D	56% D
NM_005912.3(MC4R):c.606C>A (p.Phe202Leu)	83% N	79% N	58% N	67% N	79% N	77% N	50% N
NM_005912.3(MC4R):c.585C>G (p.Ile195Met)	52% D	59% D	68% N	67% N	41% D	46% D	56% D
NM_005912.3(MC4R):c.549G>C (p.Leu183Phe)	63% N	64% N	82% D	67% N	40% D	61% N	67% N

NM_005912.3(MC4R):c.523G>A (p.Ala175Thr)	83% N	64% N	68% N	67% N	72% N	90% N	71% N
NM_005912.3(MC4R):c.487G>A (p.Val163Ile)	83% N	85% N	78% N	67% N	75% N	66% N	67% N
NM_005912.3(MC4R):c.485C>T (p.Thr162Ile)	87% D	88% D	88% D	59% D	65% D	79% D	62% D
NM_005912.3(MC4R):c.461C>T (p.Ala154Val)	87% D	62% D	88% D	74% D	68% D	79% D	62% D
NM_005912.3(MC4R):c.437A>T (p.Asp146Val)	87% D	77% D	88% D	74% D	81% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.422T>G (p.Leu141Arg)	61% D	91% D	88% D	59% D	56% D	65% N	50% N
NM_005912.3(MC4R):c.419T>C (p.Leu140Pro)	87% D	88% D	86% D	59% D	81% D	79% D	85% D
NM_005912.3(MC4R):c.410T>C (p.Ile137Thr)	76% D	86% D	55% N	59% D	50% D	79% D	56% D
NM_005912.3(MC4R):c.380C>T (p.Ser127Leu)	63% N	65% N	72% N	59% D	54% D	68% N	58% N
NM_005912.3(MC4R):c.373A>G (p.Ile125Val)	65% N	56% D	89% N	67% N	68% N	45% D	61% N
NM_005912.3(MC4R):c.335C>T (p.Thr112Met)	74% N	43% D	72% N	67% N	72% N	65% N	77% N
NM_005912.3(MC4R):c.239A>G (p.Tyr80Cys)	87% D	82% D	86% D	74% D	81% D	79% D	62% D
NM_005912.3(MC4R):c.235A>G (p.Met79Val)	72% D	91% D	73% D	67% N	47% D	79% D	72% D
NM_005912.3(MC4R):c.227A>G (p.His76Arg)	76% D	92% D	73% D	74% D	68% D	79% D	58% N
NM_005912.3(MC4R):c.221A>T (p.Asn74Ile)	87% D	77% D	61% D	74% D	68% D	79% D	56% D
NM_005912.3(MC4R):c.161T>C (p.Leu54Pro)	87% D	88% D	88% D	59% D	81% D	79% D	81% D

NM_005912.2(MC4R):c.110A>T (p.Asp37Val)	63% N	59% D	73% D	67% N	76% N	66% N	50% N
NM_005912.3(MC4R):c.53G>T (p.Arg18Leu)	83% N	79% N	68% N	67% N	87% N	82% N	58% N
NM_005912.3(MC4R):c.31A>G (p.Thr11Ala)	83% N	70% N	78% N	67% N	87% N	87% N	67% N
NM_005912.3(MC4R):c.14C>A (p.Thr5Asn)	83% N	-	83% N	67% N	70% N	76% N	67% N

A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: elaborada pelo autor, utilizando dados extraídos da plataforma *PredictSNP*.

APÊNDICE F - DADOS EXTRAÍDOS DA PLATAFORMA PREDICTSNP DAS VARIANTES CONSIDERADAS COM “SIGNIFICADO INCERTO” OU COM “INTERPRETAÇÕES CONFLITANTES DE PATOGENICIDADE”.

Variação	PredictSNP	MAPP	PhD-SNP	PP-1	PP-2	SIFT	SNAP
NP_005903.2:p.Thr112Met	74% D	43% D	72% N	67% N	72% N	65% N	77% N
NP_005903.2:p.Thr112Arg	61% D	88% D	51% N	59% D	68% N	53% D	56% D
NP_005903.2:p.Ile269Asn	87% N	75% D	61% D	59% D	47% D	79% D	62% D
NP_005903.2:p.Val253Ile	74% N	64% N	68% N	67% N	40% D	76% N	71% N
NP_005903.2:p.Ile226Thr	87% D	86% D	59% D	59% D	60% D	79% D	72% D
NP_005903.2:p.Asn240Ser	83% N	85% N	72% N	67% N	87% N	90% N	55% N
NP_005903.2:p.Ser295Pro	87% D	86% D	88% D	59% D	40% D	79% D	72% D
NP_005903.2:p.Thr11Ala	83% N	70% N	78% N	67% N	87% N	87% N	67% N
NP_005903.2:p.Leu54Pro	87% D	88% D	88% D	59% D	81% D	79% D	81% D
NP_005903.2:p.Tyr276Cys	72% D	68% N	58% D	74% D	68% D	79% D	85% D
NP_005903.2:p.Thr5Ile	75% N	-	68% N	59% D	70% N	76% N	61% N
NP_005903.2:p.Thr5Asn	83% N	-	83% N	67% N	70% N	76% N	67% N
NP_005903.2:p.Val255Phe	63% N	66% N	73% D	59% D	72% N	78% N	61% N
NP_005903.2:p.Val255Ile	83% N	77% N	89% N	67% N	75% N	90% N	71% N

NP_005903.2:p.Asn123Ser	60%	63%	83%	67%	43%	79%	55%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ala259Val	76%	91%	88%	67%	56%	79%	56%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Asn294Asp	76%	84%	88%	67%	68%	79%	89%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Asn294His	72%	77%	86%	67%	55%	79%	62%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Thr150Ile	87%	88%	82%	74%	81%	79%	56%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Thr150Ser	74%	74%	51%	67%	50%	71%	77%
	N	N	N	N	D	N	N
NP_005903.2:p.Met215Ile	61%	77%	58%	67%	65%	79%	85%
	D	D	N	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Arg305Leu	87%	77%	86%	74%	81%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Arg305Gln	87%	66%	61%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile317Phe	63%	41%	73%	67%	74%	70%	61%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile317Val	75%	43%	89%	67%	79%	82%	67%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg18Leu	83%	79%	68%	67%	87%	82%	58%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg18His	83%	76%	72%	67%	87%	82%	83%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile297Thr	65%	77%	68%	59%	47%	46%	56%
	D	D	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile297Asn	87%	78%	68%	59%	68%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.His283Tyr	83%	73%	55%	67%	79%	77%	61%
	N	N	N	N	N	N	N

NP_005903.2:p.Gly231Ser	83%	74%	51%	67%	64%	71%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Tyr80Phe	76%	82%	61%	74%	81%	79%	58%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Tyr80Cys	87%	82%	86%	74%	81%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Arg310Lys	87%	56%	77%	74%	81%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile125Val	65%	56%	89%	67%	68%	45%	61%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Cys279Tyr	87%	77%	77%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Pro272Arg	87%	88%	77%	74%	63%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala219Ser	61%	82%	86%	67%	60%	79%	61%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ala219Thr	87%	88%	88%	74%	68%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile195Met	52%	59%	68%	67%	41%	46%	56%
	D	D	N	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu183Phe	63%	64%	82%	67%	40%	61%	67%
	N	N	D	N	D	N	N
NP_005903.2:p.Asp146Val	87%	77%	88%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Met79Val	72%	91%	73%	67%	47%	79%	72%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile169Ser	63%	65%	55%	59%	72%	53%	55%
	N	N	N	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Gly98Arg	76%	88%	73%	59%	40%	53%	55%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Ser30Phe	75%	64%	73%	67%	76%	65%	50%
	N	N	D	N	N	N	N

NP_005903.2:p.Pro78Leu	87%	86%	59%	74%	81%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser94Arg	87%	88%	77%	59%	81%	79%	89%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val95Phe	72%	48%	73%	59%	61%	53%	56%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Val95Ile	83%	77%	78%	67%	64%	68%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile121Thr	60%	72%	72%	67%	87%	53%	56%
	N	D	N	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Pro230Leu	87%	72%	82%	74%	50%	53%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala244Val	76%	88%	86%	59%	65%	53%	55%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Ala244Gly	87%	88%	88%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala244Glu	87%	77%	86%	74%	81%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Gly252Ser	72%	57%	68%	67%	68%	79%	62%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile317Ser	72%	63%	59%	59%	61%	79%	56%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Ile317Thr	61%	72%	72%	59%	41%	79%	50%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly181Arg	87%	88%	77%	59%	65%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala89Gly	61%	64%	88%	67%	54%	79%	56%
	D	N	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala239Asp	72%	92%	73%	74%	70%	53%	81%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Cys257Ser	76%	77%	88%	67%	81%	79%	85%
	D	D	D	N	D	D	D

NP_005903.2:p.Thr178Met	55%	59%	73%	67%	40%	45%	61%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Thr53Ile	74%	75%	51%	59%	76%	75%	71%
	N	N	N	D	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg7His	83%	-	72%	67%	87%	90%	61%
	N	-	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser4Phe	71%	-	72%	67%	74%	79%	55%
	N	-	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ser4Tyr	60%	-	72%	74%	63%	79%	55%
	N	-	N	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Phe51Leu	61%	77%	73%	67%	65%	79%	61%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ile137Thr	76%	86%	55%	59%	50%	79%	56%
	D	D	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Phe82Leu	60%	66%	61%	67%	63%	46%	55%
	D	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Tyr35Cys	63%	65%	77%	74%	61%	74%	61%
	N	N	D	D	N	N	N
NP_005903.2:p.His76Arg	76%	92%	73%	74%	68%	79%	58%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Met241Thr	51%	78%	55%	67%	61%	79%	85%
	D	D	N	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Ala227Thr	75%	57%	55%	67%	61%	65%	58%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Pro275Ser	60%	41%	45%	67%	47%	46%	55%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Leu207Val	60%	77%	66%	67%	47%	43%	50%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.His158Arg	61%	92%	82%	67%	55%	79%	55%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Glu308Val	87%	92%	82%	74%	81%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D

NP_005903.2:p.Ile251Thr	61%	84%	66%	59%	43%	79%	55%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Glu308Lys	87%	77%	86%	74%	81%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala176Val	74%	68%	59%	67%	74%	76%	58%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val145Ala	63%	62%	82%	67%	68%	70%	67%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile198Thr	63%	64%	68%	59%	71%	79%	55%
	N	N	N	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Ile198Asn	87%	77%	77%	59%	45%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Met79Ile	87%	77%	77%	74%	59%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser190Gly	52%	51%	61%	67%	71%	46%	62%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Leu31Phe	83%	75%	58%	67%	79%	78%	83%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser139Arg	61%	82%	86%	59%	56%	67%	50%
	D	D	D	D	D	N	N
NP_005903.2:p.Gly252Asp	87%	88%	68%	59%	81%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Gly238Ser	83%	85%	51%	67%	73%	76%	50%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala27Thr	83%	76%	66%	67%	75%	68%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val46Ala	51%	77%	68%	67%	54%	79%	55%
	D	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Met161Thr	87%	63%	68%	74%	56%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile137Val	63%	72%	83%	67%	61%	53%	55%
	N	D	N	N	N	D	N

NP_005903.2:p.Ile169Val	83%	74%	83%	67%	87%	70%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile57Leu	75%	76%	68%	67%	87%	71%	71%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu247Met	87%	72%	68%	74%	81%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Arg18Cys	63%	77%	58%	74%	40%	70%	55%
	N	N	N	D	D	N	N
NP_005903.2:p.Arg18Ser	83%	76%	78%	67%	87%	78%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser36Phe	63%	65%	77%	67%	74%	53%	58%
	N	N	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Gly324Asp	75%	-	61%	67%	74%	76%	50%
	N	-	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile63Phe	51%	56%	82%	67%	68%	79%	61%
	D	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ser171Ile	65%	63%	51%	59%	87%	53%	71%
	N	N	N	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Ser171Asn	63%	77%	51%	67%	73%	79%	61%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Phe152Ser	61%	77%	51%	74%	81%	79%	61%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly238Val	63%	51%	68%	67%	74%	78%	55%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly238Ala	83%	65%	68%	67%	79%	79%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly238Asp	63%	65%	59%	67%	72%	75%	81%
	N	N	D	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Met200Val	63%	66%	73%	67%	87%	61%	58%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile143Val	55%	72%	66%	67%	50%	45%	56%
	D	D	N	N	D	D	D

NP_005903.2:p.Ser270Phe	63%	72%	51%	59%	72%	79%	50%
	N	N	N	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Pro260Ala	87%	77%	61%	59%	68%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala234Val	74%	70%	59%	67%	75%	76%	50%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala234Asp	55%	48%	73%	59%	69%	76%	72%
	D	D	D	D	N	N	D
NP_005903.2:p.Arg7Cys	55%	-	51%	74%	54%	66%	72%
	D	-	N	D	D	N	D
NP_005903.2:p.Arg7Ser	75%	-	78%	67%	79%	76%	56%
	N	-	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Thr110Arg	83%	65%	51%	67%	87%	77%	77%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg147Ser	87%	77%	88%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Asp146His	87%	77%	88%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Asp146Asn	87%	77%	88%	59%	59%	53%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Gly34Val	75%	74%	45%	67%	71%	61%	62%
	N	N	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Gly34Ala	83%	71%	72%	67%	74%	77%	58%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly34Asp	63%	48%	58%	67%	73%	68%	72%
	N	D	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Ile195Ser	61%	66%	55%	59%	61%	79%	62%
	D	D	N	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Ile195Thr	65%	76%	78%	59%	50%	79%	72%
	D	D	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser171Gly	83%	70%	66%	67%	87%	76%	77%
	N	N	N	N	N	N	N

NP_005903.2:p.Ile102Val	83%	63%	89%	67%	76%	75%	77%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile291Ser	87%	76%	59%	59%	60%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Arg236Cys	61%	63%	82%	67%	70%	43%	85%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Leu263Ile	51%	63%	66%	67%	59%	79%	50%
	D	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Met208Ile	63%	48%	73%	67%	68%	67%	71%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Asp298His	87%	77%	77%	59%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Asp298Asn	61%	62%	72%	67%	65%	53%	85%
	D	D	N	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Gln273His	83%	79%	66%	67%	75%	67%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly38Arg	75%	82%	58%	67%	71%	67%	58%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Thr11Ile	83%	68%	68%	67%	75%	76%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala154Val	87%	62%	88%	74%	68%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala154Asp	87%	88%	89%	74%	81%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala303Pro	87%	88%	88%	59%	68%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala303Thr	76%	88%	61%	67%	81%	79%	72%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Lys71Arg	74%	41%	66%	67%	68%	73%	61%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser329Phe	51%	-	58%	59%	69%	53%	62%
	D	-	N	D	N	D	D

NP_005903.2:p.Phe201Leu	72% D	75% D	68% D	67% N	60% D	79% D	72% D
NP_005903.2:p.Ser329Pro	83% N	-	68% N	67% N	87% N	89% N	67% N
NP_005903.2:p.Phe261Leu	51% D	75% D	73% D	67% N	61% N	46% D	55% N
NP_005903.2:p.Phe261Ile	61% D	72% D	86% D	67% N	59% D	79% D	50% N
NP_005903.2:p.Leu15Phe	83% N	76% N	68% N	67% N	87% N	84% N	77% N
NP_005903.2:p.Met208Val	51% D	62% D	86% D	67% N	61% N	79% D	61% D
NP_005903.2:p.Val179Ile	83% N	79% N	68% N	67% N	79% N	76% N	67% N
NP_005903.2:p.Lys73Arg	83% N	79% N	55% N	67% N	76% N	87% N	77% N
NP_005903.2:p.Pro321Ser	83% N	85% N	89% N	67% N	87% N	90% N	67% N
NP_005903.2:p.Leu64Ile	72% D	78% D	58% D	67% N	50% D	79% D	56% D
NP_005903.2:p.Tyr153Cys	76% D	76% D	88% D	74% D	55% D	53% D	58% N
NP_005903.2:p.Tyr157Ser	87% D	57% D	88% D	74% D	81% D	79% D	85% D
NP_005903.2:p.His14Gln	83% N	78% N	72% N	67% N	71% N	71% N	55% N
NP_005903.2:p.Arg220Ser	61% D	64% N	82% D	74% D	65% D	53% D	55% N
NP_005903.2:p.Ser25Arg	83% N	66% N	78% N	67% N	79% N	76% N	55% N
NP_005903.2:p.Ile160Thr	62% D	81% D	51% N	74% D	68% D	79% D	50% N

NP_005903.2:p.Tyr80His	61%	81%	55%	59%	59%	53%	55%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Tyr80Asn	61%	86%	66%	74%	81%	79%	61%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Ser188Leu	61%	77%	59%	59%	61%	43%	50%
	D	D	D	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Ala209Asp	87%	88%	88%	59%	56%	79%	56%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile185Val	60%	57%	89%	67%	43%	79%	58%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Asn120Asp	65%	56%	68%	67%	87%	46%	50%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Met215Arg	87%	92%	88%	59%	81%	79%	89%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Met215Thr	76%	84%	86%	67%	68%	79%	85%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Val124Ile	83%	70%	83%	67%	72%	74%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu304Phe	83%	85%	58%	67%	76%	90%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Met218Thr	61%	77%	68%	67%	73%	79%	56%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Met218Lys	51%	63%	82%	67%	72%	79%	72%
	D	N	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Asn72Ser	61%	75%	51%	59%	60%	46%	55%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Tyr332His	65%	-	68%	74%	81%	79%	62%
	D	-	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Glu42Gln	65%	78%	68%	67%	68%	43%	77%
	N	N	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Glu42Lys	61%	65%	68%	59%	54%	79%	55%
	D	N	D	D	D	D	N

NP_005903.2:p.Ile266Leu	83%	68%	72%	67%	87%	61%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Pro48Leu	68%	41%	78%	59%	69%	76%	67%
	N	D	N	D	N	N	N
NP_005903.2:p.Asp126Tyr	76%	77%	77%	59%	68%	79%	55%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Tyr287Cys	72%	64%	73%	59%	68%	79%	62%
	D	N	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Gly55Cys	72%	72%	68%	59%	55%	46%	61%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly55Ser	60%	64%	58%	67%	55%	79%	71%
	N	N	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly32Glu	74%	43%	51%	67%	76%	76%	61%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile235Thr	63%	64%	58%	67%	64%	45%	62%
	N	N	N	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Ile195Val	83%	64%	89%	67%	72%	82%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu133Val	74%	43%	51%	67%	68%	82%	77%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly243Arg	87%	88%	86%	74%	81%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.His24Asn	74%	56%	78%	67%	87%	76%	61%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly323Val	63%	48%	86%	67%	79%	74%	50%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly323Glu	52%	41%	68%	59%	70%	74%	56%
	D	D	D	D	N	N	D
NP_005903.2:p.Gly323Arg	83%	79%	45%	67%	87%	90%	58%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser306Asn	61%	77%	55%	67%	59%	79%	81%
	D	D	N	N	D	D	D

NP_005903.2:p.Ser36Thr	83%	70%	72%	67%	87%	75%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu229Pro	87%	91%	82%	74%	65%	79%	89%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val56Ala	74%	57%	72%	67%	87%	71%	58%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu134Pro	87%	77%	59%	59%	63%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Tyr320His	83%	72%	66%	67%	87%	76%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Met281Ile	63%	56%	58%	67%	72%	61%	61%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala244Thr	61%	88%	61%	67%	50%	53%	55%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Thr5Ser	83%	-	89%	67%	87%	78%	67%
	N	-	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Asn72Lys	87%	84%	82%	74%	68%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Gly324Ser	83%	-	68%	67%	79%	82%	77%
	N	-	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Cys293Gly	87%	78%	61%	59%	60%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala259Thr	61%	77%	68%	67%	54%	79%	58%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ser210Phe	61%	46%	73%	59%	64%	53%	58%
	D	D	D	D	N	D	N
NP_005903.2:p.Ser210Cys	74%	85%	55%	67%	72%	46%	61%
	N	N	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Met91Thr	51%	77%	73%	67%	69%	53%	58%
	D	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Met91Lys	87%	88%	77%	59%	50%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D

NP_005903.2:p.Ala68Val	61%	86%	73%	67%	60%	79%	58%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Thr312Ser	72%	76%	58%	59%	63%	53%	56%
	D	D	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Trp174Cys	87%	91%	88%	59%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val46Ile	83%	85%	98%	67%	72%	90%	83%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala27Val	74%	75%	66%	67%	79%	68%	56%
	N	N	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Ala27Asp	63%	92%	68%	67%	79%	65%	50%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Met1Ile	73%	-	72%	67%	68%	79%	77%
	N	-	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ala192Gly	65%	74%	59%	67%	41%	61%	50%
	N	N	D	N	D	N	N
NP_005903.2:p.Tyr35His	83%	75%	72%	67%	87%	79%	77%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Asn240Asp	61%	56%	68%	59%	68%	61%	72%
	D	D	D	D	N	N	D
NP_005903.2:p.Lys33Gln	83%	79%	68%	67%	76%	76%	58%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser131Arg	72%	91%	59%	59%	55%	65%	62%
	D	D	D	D	D	N	D
NP_005903.2:p.Phe284Cys	72%	77%	77%	67%	56%	79%	72%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser132Cys	51%	84%	58%	67%	56%	79%	61%
	D	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Cys196Tyr	87%	66%	77%	59%	63%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ala70Val	83%	76%	68%	67%	79%	90%	67%
	N	N	N	N	N	N	N

NP_005903.2:p.Ala70Gly	63%	56%	66%	67%	71%	79%	58%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.His6Tyr	74%	-	66%	67%	79%	43%	50%
	N	-	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ser12Pro	83%	70%	83%	67%	87%	76%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile226Phe	87%	63%	88%	74%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu263Pro	87%	77%	88%	59%	45%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu211Phe	76%	77%	73%	67%	81%	79%	62%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu211Val	61%	84%	66%	67%	60%	79%	56%
	D	D	N	N	D	D	D
NP_005903.2:p.His76Tyr	87%	84%	82%	74%	81%	79%	81%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Cys326Arg	52%	-	88%	67%	68%	46%	81%
	D	-	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Leu75Val	87%	84%	77%	74%	68%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Asp111Gly	83%	70%	58%	67%	87%	76%	58%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Cys138Phe	51%	56%	73%	67%	68%	79%	61%
	D	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Phe284Leu	72%	76%	68%	67%	55%	79%	62%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser28Ile	63%	65%	68%	67%	75%	46%	50%
	N	N	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Gln156Arg	83%	85%	45%	67%	79%	90%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gln156Pro	76%	88%	88%	59%	55%	79%	55%
	D	D	D	D	D	D	N

NP_005903.2:p.Lys314Thr	61%	77%	55%	67%	45%	53%	56%
	D	D	N	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Asn120Ser	74%	46%	89%	67%	87%	71%	55%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Lys73Asn	87%	57%	82%	74%	50%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Gly55Val	76%	81%	82%	59%	68%	79%	50%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly55Asp	87%	88%	68%	59%	68%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser77Leu	61%	84%	82%	67%	43%	79%	50%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Tyr332Cys	87%	-	61%	74%	81%	79%	72%
	D	-	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val228Phe	61%	63%	82%	59%	68%	53%	72%
	D	N	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Val228Ile	65%	63%	72%	67%	79%	45%	62%
	N	N	N	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Gly233Val	60%	56%	61%	67%	71%	66%	62%
	N	D	D	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Met204Ile	55%	59%	82%	67%	74%	53%	56%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Tyr302Phe	72%	82%	88%	67%	68%	45%	85%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu155Phe	87%	77%	88%	74%	81%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu155Val	76%	84%	73%	74%	81%	79%	55%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Ser190Asn	75%	79%	68%	67%	73%	74%	58%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly39Glu	60%	48%	66%	59%	45%	65%	77%
	N	D	N	D	D	N	N

NP_005903.2:p.Leu300Pro	76%	92%	86%	59%	61%	53%	72%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Thr246Asn	87%	77%	86%	59%	59%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Asp113Gly	74%	65%	66%	67%	87%	76%	62%
	N	N	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Glu42Asp	74%	63%	51%	67%	68%	43%	61%
	N	N	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Met1Val	73%	-	83%	67%	75%	79%	58%
	N	-	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ala68Ser	60%	77%	58%	67%	55%	53%	61%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Pro48Ser	74%	66%	89%	59%	68%	76%	83%
	N	N	N	D	N	N	N
NP_005903.2:p.Asn26Lys	60%	73%	86%	67%	75%	46%	56%
	N	N	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Leu59Ser	87%	86%	68%	59%	65%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Asn26Asp	75%	63%	59%	67%	76%	66%	50%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val278Leu	83%	70%	83%	67%	79%	76%	58%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val278Met	83%	66%	68%	67%	68%	73%	55%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Met218Val	60%	76%	66%	67%	75%	53%	56%
	N	D	N	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Leu286Trp	76%	57%	45%	59%	41%	79%	72%
	D	D	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Phe184Leu	60%	62%	51%	67%	40%	53%	58%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ile104Phe	60%	57%	45%	67%	40%	79%	77%
	N	D	N	N	D	D	N

NP_005903.2:p.Gly8Ala	83%	-	78%	67%	76%	71%	50%
	N		N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala234Thr	83%	77%	66%	67%	87%	79%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu325Phe	83%	74%	68%	67%	87%	81%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu325Ile	83%	85%	83%	67%	87%	76%	77%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser85Ile	87%	72%	88%	59%	60%	53%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu290Gln	87%	78%	86%	59%	81%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Met218Ile	52%	51%	59%	67%	75%	53%	56%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Ser28Arg	65%	48%	58%	59%	68%	53%	56%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Arg236Leu	51%	76%	68%	67%	73%	65%	81%
	D	D	D	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Arg236His	74%	85%	59%	67%	75%	79%	50%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Cys293Tyr	87%	75%	59%	59%	65%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu60Phe	55%	57%	59%	67%	47%	79%	67%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Val67Ala	83%	77%	78%	67%	87%	90%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Leu133Ser	72%	63%	59%	59%	56%	79%	67%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Asp113Asn	74%	77%	68%	67%	87%	77%	56%
	N	N	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Val52Ala	63%	63%	72%	67%	70%	79%	58%
	N	D	N	N	N	D	N

NP_005903.2:p.Val52Glu	87%	92%	73%	59%	40%	79%	56%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Tyr276His	60%	75%	68%	67%	63%	43%	56%
	N	D	N	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Leu64Ser	87%	82%	82%	59%	43%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val179Ala	63%	68%	59%	67%	79%	61%	56%
	N	N	D	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Phe261Leu	51%	75%	73%	67%	61%	46%	55%
	D	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Glu49Ala	61%	59%	68%	59%	55%	79%	50%
	D	D	N	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Val95Gly	65%	46%	61%	59%	71%	46%	56%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Val95Ala	65%	48%	55%	67%	64%	53%	58%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ala239Thr	83%	70%	78%	67%	87%	90%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala87Thr	61%	88%	88%	67%	81%	79%	50%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly34Cys	61%	77%	73%	74%	59%	53%	58%
	D	N	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly34Arg	63%	43%	78%	67%	73%	71%	81%
	N	D	N	N	N	N	D
NP_005903.2:p.Leu221Pro	72%	62%	86%	59%	41%	66%	81%
	D	D	D	D	D	N	D
NP_005903.2:p.Met204Thr	63%	72%	82%	67%	73%	71%	55%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.His24Arg	75%	86%	78%	67%	87%	76%	55%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Phe262Leu	72%	72%	77%	67%	45%	79%	62%
	D	D	D	N	D	D	D

NP_005903.2:p.Met292Ile	75%	65%	68%	67%	71%	79%	50%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg220Lys	65%	74%	68%	74%	65%	43%	56%
	D	N	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser191Thr	83%	79%	66%	67%	79%	90%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Asn120Lys	83%	68%	78%	67%	87%	65%	50%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser109Asn	83%	77%	58%	67%	87%	90%	83%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val93Gly	72%	43%	68%	59%	61%	79%	62%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Asp90Gly	87%	77%	86%	59%	68%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val65Met	76%	84%	68%	67%	81%	79%	72%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Thr105Ile	74%	78%	72%	59%	87%	67%	83%
	N	N	N	D	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg331Lys	83%	-	98%	67%	79%	76%	67%
	N	-	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser330Ile	74%	-	72%	67%	71%	43%	50%
	N	-	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Glu315Asp	65%	62%	68%	67%	68%	45%	61%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Lys314Glu	87%	78%	77%	59%	60%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Phe313Leu	74%	65%	59%	67%	70%	81%	61%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile296Val	83%	76%	83%	67%	87%	90%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile289Thr	60%	57%	66%	59%	69%	45%	58%
	N	D	N	D	N	D	N

NP_005903.2:p.Ile269Val	83%	73%	83%	67%	76%	76%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.His264Arg	87%	92%	82%	59%	59%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Val256Phe	60%	56%	73%	59%	74%	75%	55%
	N	D	D	D	N	N	N
NP_005903.2:p.Val255Ala	60%	63%	66%	67%	40%	79%	50%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ile249Val	60%	66%	68%	67%	43%	46%	67%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Thr248Ala	60%	88%	72%	67%	50%	43%	58%
	N	D	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Gly231Asp	61%	65%	51%	59%	50%	46%	72%
	D	N	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu229Phe	63%	57%	82%	67%	64%	67%	50%
	N	D	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Arg225Met	76%	65%	82%	74%	56%	79%	85%
	D	N	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Met208Thr	61%	62%	88%	67%	64%	43%	56%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Met204Leu	52%	56%	61%	67%	75%	46%	56%
	D	D	D	N	N	D	D
NP_005903.2:p.Met200Thr	60%	66%	59%	67%	87%	46%	55%
	N	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Ile198Val	83%	74%	83%	67%	87%	79%	61%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val193Ile	74%	48%	68%	67%	69%	68%	58%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile173Met	55%	78%	55%	67%	40%	53%	56%
	D	D	N	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile151Thr	87%	77%	82%	59%	60%	79%	56%
	D	D	D	D	D	D	D

NP_005903.2:p.Tyr148His	87%	81%	86%	59%	63%	79%	72%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile143Ser	87%	77%	86%	59%	81%	79%	62%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser127Pro	87%	62%	59%	59%	63%	43%	56%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ile121Leu	83%	75%	89%	67%	87%	82%	71%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Gln115His	83%	74%	68%	67%	79%	76%	55%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala114Val	74%	77%	58%	67%	79%	78%	50%
	N	N	D	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser109Arg	75%	59%	45%	67%	79%	70%	71%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Thr101Ser	63%	73%	78%	67%	43%	79%	71%
	N	N	N	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Ser99Leu	74%	79%	83%	59%	87%	87%	83%
	N	N	N	D	N	N	N
NP_005903.2:p.Gly98Glu	72%	92%	68%	59%	68%	53%	56%
	D	D	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Met91Ile	51%	81%	73%	67%	61%	79%	67%
	D	D	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Val88Ala	75%	57%	45%	67%	68%	67%	71%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ile83Val	74%	41%	78%	67%	63%	76%	61%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Val65Glu	87%	92%	82%	59%	65%	79%	85%
	D	D	D	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu59Phe	52%	57%	58%	67%	47%	43%	61%
	D	D	D	N	D	D	N
NP_005903.2:p.Leu44Phe	65%	56%	72%	67%	61%	53%	77%
	N	D	N	N	N	D	N

NP_005903.2:p.Cys40Arg	63%	63%	86%	67%	61%	46%	50%
	N	N	D	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Gly39Arg	74%	51%	55%	67%	69%	66%	71%
	N	D	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Asp37Tyr	55%	65%	61%	59%	63%	53%	62%
	D	N	D	D	N	D	D
NP_005903.2:p.Ser25Arg	83%	66%	78%	67%	79%	76%	55%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Met9Leu	83%	71%	89%	67%	87%	89%	67%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ser4Ala	75%	-	89%	67%	70%	53%	61%
	N		N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Phe284Ile	72%	62%	59%	67%	68%	79%	72%
	D	D	D	N	D	D	D
NP_005903.2:p.Leu205Gln	76%	77%	82%	59%	81%	79%	58%
	D	D	D	D	D	D	N
NP_005903.2:p.Asp122His	76%	77%	45%	59%	47%	53%	56%
	D	D	N	D	D	D	D
NP_005903.2:p.Ser109Gly	83%	73%	72%	67%	87%	82%	83%
	N	N	N	N	N	N	N
NP_005903.2:p.Ala70Thr	68%	48%	72%	67%	69%	43%	58%
	N	D	N	N	N	D	N
NP_005903.2:p.Cys40Tyr	55%	77%	82%	74%	55%	46%	67%
	D	N	D	D	D	D	N

A (Ala): Alanina; C (Cys): Cisteína; D (Asp): Ácido Aspártico; E (Glu): Ácido Glutâmico; F (Phe): Fenilalanina; G (Gly): Glicina; H (His): Histidina; I (Ile): Isoleucina; K (Lys): Lisina; L (Leu): Leucina; M (Met): Metionina; N (Asn): Asparagina; P (Pro): Prolina; Q (Gln): Glutamina; R (Arg): Arginina; S (Ser): Serina; T (Thr): Treonina; V (Val): Valina; W (Trp): Triptofano; Y (Tyr): Tirosina.

Fonte: elaborada pelo autor, utilizando dados extraídos da plataforma *PredictSNP*.