

Frequência alélica e potencial regulatório de polimorfismos no gene *NELL1* em uma população da Bahia – Brasil

Allele frequency and regulatory potential of polymorphisms in NELL1 gene in a population of Bahia – Brazil

Jaiza Kênsuly Moura Pinheiro Carneiro¹, Camila Alexandrina Figueiredo²,
Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto^{3*}

¹Graduada em Odontologia pela Faculdade Adventista da Bahia, Mestranda do Programa de Pós-Graduação de Processos Interativos de Órgãos e Sistemas; ²Farmacêutica pela Universidade Federal da Paraíba, Professora de Farmacologia do Departamento de Biorregulação e do Programa de Pós-Graduação de Processos Interativos de Órgãos e Sistemas; ³Odontóloga pela Universidade Federal da Paraíba, Professora de Farmacologia do Departamento de Biorregulação e do Programa de Pós-Graduação de Processos Interativos de Órgãos e Sistemas

Resumo

Introdução: o gene *NELL1* codifica a proteína semelhante ao fator de crescimento epidérmico (do inglês Epidermal Growth factor (EGF)-like). GWASs e estudos de associação com genes candidatos têm sido utilizados para estabelecer a conexão entre polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) no *NELL1* e diversas doenças. **Objetivo:** descrever a frequência alélica e o potencial regulatório dos polimorfismos do gene *NELL1*, estudados em uma população de Salvador (Bahia, Brasil) e descrever a frequência desses polimorfismos e a associação com diversas doenças, em populações africana, ameríndia, asiática e europeia. **Metodologia:** 1094 participantes foram recrutados através do Programa de Controle da Asma e da Rinite Alérgica no Estado da Bahia (ProAR). Os indivíduos tiveram o DNA genômico extraído e genotipado, utilizando-se a plataforma Illumina. Os SNP foram consultados através da plataforma SeattleSec Annotation. As bases de dados NCBI, RegulomeDB e Haploview 4.2 foram utilizadas para as análises. **Resultados:** foram analisados 346 SNPs do gene *NELL1*. Desses, 53 SNPs tiveram o MAF variando entre 50% e 40% e função intrônica. Os SNPs rs10833465 (alelo A), rs908944 (alelo C), rs1516766 (alelo A), rs10766739 (alelo G) e rs11025878 (alelo G) apresentam uma pontuação de 3, de acordo com o banco do RegulomeDB. O SNP rs7117671, com pontuação 2b, pode ter impacto regulatório e funcional. 101 SNPs apresentaram o MAF entre 39% e 20%. Dos polimorfismos menos frequentes nessa população, 192 apresentaram um MAF entre 19% e 2%. **Discussão:** alguns SNPs, com diferentes frequências, apresentaram alta probabilidade de impacto funcional. Foram encontrados, na literatura, estudos de associação dos SNPs e osteoporose, doenças metabólicas, condições inflamatórias, doenças neuropsiquiátricas e tumores malignos. **Conclusão:** os polimorfismos do gene *NELL1* estudados apresentaram diferentes frequências na população desse estudo e tiveram seus alelos associados a doenças em diferentes populações. Sugere-se que sejam realizados mais estudos. **Palavras-chave:** Polimorfismo de nucleotídeo único. Marcadores genéticos. *NELL1*.

Abstract

Introduction: the *NELL1* gene encodes the epidermal growth factor (EGF)-like protein. GWASs and association studies with candidate genes have been used to establish the connection between single nucleotide polymorphisms (SNP) in *NELL1* and various diseases. **Objective:** to describe the allele frequency and regulatory potential of *NELL1* gene polymorphisms studied in a population from Salvador, Bahia, Brazil; and to describe the frequency of these polymorphisms, and the association with various diseases, in African, Amerindian, Asian and European populations. **Methodology:** one thousand and ninety-four (1094) participants were recruited through the Program for the Control of Asthma and Allergic Rhinitis in the State of Bahia (ProAR). Individuals had their genomic DNA extracted and genotyped using the Illumina platform. The SNPs were consulted through the SeattleSec Annotation platform. The NCBI, RegulomeDB and Haploview 4.2 databases were used for the analyses. **Results:** four hundred and seventy-three (346) *NELL1* gene SNPs were analyzed. Of these, 53 SNPs had MAF ranging between 50% and 40% and intronic function. The SNPs rs10833465 (A allele), rs908944 (C allele), rs1516766 (A allele), rs10766739 (G allele) and rs11025878 (G allele) showed a score of 3, according to the RegulomeDB database. SNP rs7117671, with score 2b, may have regulatory and functional impact. One hundred and eighteen (101) SNPs presented MAF between 39% and 20%. Of the less frequent polymorphisms in this population, 192 had a MAF between 19% and 2%. **Discussion:** some SNPs, with different frequencies, presented a high probability of functional impact. Studies on the association of SNPs and osteoporosis, metabolic diseases, inflammatory conditions, neuropsychiatric diseases and malignant tumors were found in the literature. **Conclusion:** the *NELL1* gene polymorphisms studied showed different frequencies in the population of this study and had their alleles associated with diseases in different populations. It is suggested that further studies be carried out. **Keywords:** Single Nucleotide Polymorphism. Genetic Markers. *NELL1*.

Correspondente/Corresponding: *Tatiane de Oliveira Teixeira Muniz Carletto – End: Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia – End: Av. Reitor Miguel Calmon S/N, Vale do Canela, Salvador-BA CEP: 40110-100 – Tel/Fax: +55 (71) 3283-8900 – E – mail: tati-oliveira@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O gene *NELL1* codifica a proteína citoplasmática que contém repetições semelhantes ao fator de crescimento

epidérmico (do inglês, Epidermal Growth factor (EGF)-like)¹. A proteína heterotrimérica codificada pode estar envolvida na regulação e diferenciação do crescimento celular². Em humanos, o gene *NELL1* foi mapeado no cromossomo 11, na localização 11p15.1-p15.2, cuja capacidade osteogênica vem sendo amplamente estudada^{1,2}.

A expressão de *NELL1* ocorre, predominantemente, em tecidos neurais^{2,3}. As descobertas iniciais foram realizadas por Ting et al.³ (1999) e Li et al.⁴ (2019), e o primeiro relato da função ocorreu ao se isolar a proteína (Proteína semelhante ao fator de crescimento epidérmico neural 1 (NELL-1)⁵ e descobrir que ela era regulada positivamente em tecidos ósseos cranianos humanos^{4,5}. Foi observada a superexpressão de *NELL1*, que foi associada com craniossinostose humana³. Por conseguinte, os esforços das pesquisas foram focados na propriedade osteogênica do gene, seu uso potencial na regeneração óssea e via de sinalização da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) mediada por *NELL1*^{3,5,6}. As atuais funções conhecidas de *NELL1*, descritas na literatura, estão envolvidas com a promoção do aumento da vascularização, da condrogênese e osteogênese, e supressão da atividade osteoclástica, da adipogênese e da inflamação^{2,7}.

Os polimorfismos são definidos como alterações genéticas que podem ocorrer em sequências codificadoras e não codificadoras, que vêm sendo utilizados como marcadores genéticos para localizar os genes causadores das doenças por meio do estudo das heranças⁸. Alguns polimorfismos não apresentam efeito fenotípico, enquanto outros afetam a expressão e (ou) a função da proteína que é codificada pelo gene afetado, e podem gerar, como consequências, variações patológicas^{8,9}. O tipo de polimorfismo em evidência na literatura é o de base única, conhecido como polimorfismo de nucleotídeo único (SNP)^{9,10}. Os SNPs representam 90% de todas as variantes genéticas e podem influenciar diretamente nas doenças humanas^{2,8-10}.

Os estudos de ampla associação genômica (GWAS) mapeiam *loci* envolvidos em várias doenças complexas¹¹. São utilizados como uma ferramenta imprescindível na investigação de variantes genéticas ou polimorfismos, em larga escala nos genomas de muitos indivíduos, o que proporciona novas descobertas no genótipo-fenótipo⁹⁻¹². Os resultados obtidos por meio dos GWAS têm colaborado para um amplo conhecimento das patologias, incluindo as causas, fisiopatologia e terapêuticas empregadas^{11,12}. As investigações por meio de GWAS, têm sido utilizadas para estabelecer a conexão entre polimorfismos de nucleotídeo único específicos de *NELL1*^{2,13} e possíveis patologias, como osteoporose, distúrbios ósseos, doenças metabólicas, condições inflamatórias, doenças neuropsiquiátricas, distúrbios neurodegenerativos e tumores malignos².

Um dos desafios da genética humana consiste na compreensão dos mecanismos biológicos pelos quais as variantes genéticas influenciam os fenótipos, incluindo o risco no desenvolvimento e na gravidade de doen-

ças¹⁰. Embora essa escala seja desafiadora, os métodos empregados para interpretação de variantes funcionais terão consequências transformadoras para o diagnóstico das doenças, o risco e o desenvolvimento de novas terapêuticas². Sendo assim, o objetivo do presente estudo é descrever a frequência alélica e o potencial regulatório dos polimorfismos do gene *NELL-1*, em uma população brasileira, além de descrever como tais polimorfismos já foram relacionados, na literatura, em outras populações, com condições patológicas, até o momento.

METODOLOGIA

População do estudo

Neste estudo, 1094 participantes foram recrutados através do Programa de Controle da Asma e da Rinite Alérgica na Bahia (ProAR). Os indivíduos incluídos no estudo foram de ambos os sexos, com idade maior ou igual a 18 anos, habitantes de Salvador, Bahia, Brasil. Os parentes consanguíneos foram excluídos. O presente estudo segue os critérios éticos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Clímério de Oliveira (sob número de protocolo: 095/2012), coordenado pelo prof. Álvaro Cruz, Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia.

Extração do DNA genômico e genotipagem

A extração do DNA genômico, que utilizou amostras de sangue periférico dos indivíduos, foi realizada seguindo-se protocolo do kit Gentra® Puregene® Blood Kit (Qiagen). A genotipagem foi executada através da plataforma Illumina, que apresenta ampla varredura, com 2,5 milhões de marcadores genotipados em todo o genoma humano. Neste estudo, as informações genéticas foram extraídas de 20691097 a 21597232, posições localizadas no cromossomo 11 (*NELL-1*), versão do genoma GRCh37. Na população estudada, foram identificados 645 polimorfismos no *NELL1*. Os SNPs com equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) inferior a 0.05 foram excluídos.

Análises *in silico*

As análises funcionais *in silico* foram executadas para cada SNP presente, neste estudo, no gene *NELL1*. Os polimorfismos genéticos utilizados estão catalogados em bancos de dados acessíveis como o National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP), no qual também se dispõe da função de cada polimorfismo. Para a interpretação das funções regulatórias de regiões intergênicas no genoma humano, usou-se o banco de dados RegulomeDB (www.regulomedb.org), que utiliza um conjunto de dados experimentais de ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) e outras fontes. Os SNP foram avaliados para afetar a expressão gênica, e a função da proteína. Na plataforma RegulomeDB, é possível identificar um potencial regulatório sugestivo

através de um sistema de pontuação (*score*) que varia de 1 a 7, em que pontuações inferiores, como de 1 a 3, estão associadas à evidência de que pode afetar a ligação e a expressão de um alvo genético. A obtenção dos dados da frequência dos alelos, em outras populações, foi coletada através da plataforma HaploReg 4.0, que visa a explorar anotações do genoma não codificantes em variantes em blocos de haplótipos, como SNPs reguladores candidatos em *loci* associados a doenças. Utilizaram-se, também, informações do projeto *1000 Genomas*, que é o maior catálogo de variação genômica humana e apresenta acessibilidade pública, desenvolvido a partir de amostras que envolvem quatro continentes (americano, africano, asiático e europeu).

RESULTADOS

Na população estudada, após a aplicação do controle de qualidade, foram analisados 346 SNPs do gene *NELL1*. Desses, 53 foram os polimorfismos genéticos mais frequentes, apresentando a frequência do menor alelo

(MAF) que variava entre 50% e 40% (tabela 1); todos são localizados em íntrons. Os SNPs, rs10833465 (alelo A), rs908944 (alelo C), rs1516766 (alelo A), rs10766739 (alelo G) e rs11025878 (alelo G) apresentam uma pontuação de 3, de acordo com o banco de dados do RegulomeDB. Neste estudo, 101 SNPs apresentaram o MAF entre 39% e 20% (tabela suplementar). Dentre eles, em relação ao impacto funcional, o rs7117671 apresentou uma pontuação 2b; e os rs4923385, rs4576820, rs7126959, rs10833530 e rs10741875, uma pontuação 3a. Dos polimorfismos menos frequentes nessa população, 192 apresentaram um MAF entre 19% e 2% (tabela suplementar). Com relação à função gênica, o rs176788 é um polimorfismo do tipo missense, que apresentou um MAF de 12% e uma pontuação 5. Outros SNP que apresentaram função missense foram: rs11820003, com pontuação 5 e MAF de 4,7%; rs35809043, com pontuação 7 e MAF de 3,7%; e rs176786 com pontuação 6 e MAF de 2,3%. Em se tratando da função, 20 SNP apresentaram a função missense, porém, 15 obtiveram um MAF menor do que 2%.

Tabela 1 – Descrição dos polimorfismos em *NELL1* na população estudada com MAF variando entre 50% e 40%.

SNP	A1	A2	Função	RegulomeDB pontuação	HWE	MAF	MAF das populações			
							AFR	AMR	ASN	EUR
rs7119634	G	A	intron	7 (0.18412)	0.5135	0.4995	0,58	0,44	0,27	0,45
rs10766769	G	A	intron	6 (0.08083)	0.4447	0.4886	0,5	0,38	0,34	0,51
rs1454013	A	G	intron	7 (0.18412)	0.3291	0.4863	0,51	0,38	0,59	0,39
rs9666195	A	G	intron	5 (0.13454)	0.1906	0.4854	0,67	0,3	0,51	0,37
rs1880087	G	A	intron	6 (0.20829)	0.3838	0.4817	0,26	0,68	0,58	0,74
rs10833465	A	C	intron	3a (0.81951)	0.2306	0.4799	0,51	0,38	0,39	0,36
rs908944	C	A	intron	3a (61437)	0.3854	0.4785	0,42	0,59	0,66	0,64
rs4922735	C	A	intron	5 (0.13454)	0.3854	0.4785	0,73	0,3	0,63	0,25
rs10766737	G	A	intron	7 (0.18412)	0.3854	0.4762	0,2	0,69	0,62	0,74
rs1670644	A	G	intron	6 (0.3429)	0.19	0.4721	0,21	0,69	0,45	0,82
rs7101928	A	G	intron	5 (0.39931)	0.7433	0.4712	0,45	0,63	0,61	0,61
rs1981409	T	A	intron	5 (0.0)	0.5865	0.4707	0,44	0,64	0,92	0,57
rs7948905	A	C	intron	5 (0.25194)	0.5852	0.4689	0,6	0,49	0,6	0,51
rs10160607	A	G	intron	6 (0.298)	0.8272	0.4666	0,38	0,45	0,44	0,54
rs4923569	G	A	intron	7 (0.18412)	0.6618	0.4634	0,57	0,43	0,52	0,63
rs1010025	G	A	intron	5 (0.4099)	0.1267	0.4625	0,39	0,64	0,45	0,52
rs10833472	C	A	intron	6 (0.00333)	0.6616	0.4616	0,52	0,43	0,17	0,45
rs79219280	A	G	intron	7 (0.18412)	0.345	0.4612	0,07	0,01	0	0
rs10833492	A	G	intron	5 (0.13454)	0.4977	0.4612	0,46	0,55	0,51	0,44
rs1401794	G	A	intron	7 (0.18412)	1	0.4598	0,37	0,57	0,66	0,72
rs1377741	A	T	intron	7 (0.18412)	0.74	0.4598	0,4	0,47	0,26	0,54
rs7109004	G	A	intron	5 (0.13454)	0.2755	0.4589	0,17	0,71	0,63	0,7
rs4550216	G	A	intron	5 (0.99471)	1	0.4584	0,42	0,59	0,65	0,56
rs67317684	A	C	intron	5 (0.09659)	0.9126	0.4575	0	0	0	0
rs4597066	A	G	intron	6 (0.13144)	0.06333	0.4543	0,38	0,63	0,42	0,51
rs7950933	G	A	intron	4 (0.60906)	0.6588	0.4516	0,41	0,66	0,76	0,69
rs4923055	A	G	intron	5 (0.005)	0.6623	0.4502	0,36	0,76	0,86	0,68
rs10766826	A	G	intron	5 (0.17627)	0.5853	0.4502	0,56	0,36	0,38	0,44
rs7924766	G	A	intron	4 (0.60906)	0.5099	0.4497	0	0	0	0
rs1516766	A	G	intron	3a (0.85638)	0.5106	0.4492	0	0	0	0
rs10437585	A	G	intron	5 (0.13454)	0.1015	0.4465	0,38	0,63	0,38	0,51

rs10833547	A	C	intron	5 (0.99333)	0.5806	0.4429	0,67	0,43	0,48	0,44
rs10833455	A	G	intron	5 (0.13454)	0.7404	0.442	0,51	0,34	0,41	0,44
rs9804466	C	A	intron	6 (0.32023)	0.911	0.4415	0,36	0,49	0,49	0,54
rs10766739	G	A	intron	3a (0.52725)	0.4454	0.4401	0,14	0,6	0,59	0,73
rs1429781	A	G	intron	5 (0.13454)	1	0.436	0,33	0,83	0,84	0,82
rs4923099	G	A	intron	5 (0.13454)	1	0.4346	0,62	0,33	0,35	0,22
rs7122648	G	A	intron	7 (0.18412)	0.227	0.4324	0,54	0,35	0,59	0,33
rs10833411	A	G	intron	7 (0.18412)	0.9126	0.4269	0,11	0,6	0,7	0,8
rs1793003	C	G	intron	7 (0.18412)	0.7411	0.426	0,54	0,68	0,48	0,73
rs4515968	A	C	intron	6 (0.77072)	0.5085	0.4241	0	0	0	0
rs1516746	G	A	intron	5 (0.58955)	0.442	0.4237	0	0	0	0
rs1465604	A	G	intron	5 (0.13454)	0.4957	0.4196	0,37	0,64	0,76	0,8
rs1791845	G	A	intron	5 (0.0)	0.1241	0.4186	0,49	0,61	0,32	0,73
rs4539321	A	C	intron	5 (0.25194)	0.2603	0.4142	0,3	0,58	0,61	0,56
rs4923240	A	G	intron	5 (0.30775)	0.7341	0.4132	0,78	0,48	0,57	0,41
rs10766743	C	A	intron	5 (0.69)	0.4886	0.409	0,08	0,6	0,52	0,75
rs10833528	C	G	intron	4 (0.60906)	0.9121	0.4077	0,36	0,44	0,22	0,49
rs6483735	A	G	intron	5 (0.13454)	0.4916	0.4049	0,4	0,75	0,77	0,78
rs11025878	A	G	intron	3b (0.99)	0.1748	0.4017	0,58	0,23	0,03	0,26

*Polimorfismo, A1: menor alelo; A2: alelo ancestral; MAF: frequência de menor alelo, função, pontuação RegulomeDb; HWE: equilíbrio de Hardy-Weinberg. Dados provenientes da base de dados do Projeto 1000 Genomas – AFR: africanos; AMR: ameríndios; ASN: asiáticos; EUR: europeus.

Fonte: dados da pesquisa.

Na Tabela 1, destacam-se os polimorfismos que apresentaram variação no MAF entre 50 a 40% na população estudada e o MAF nas populações africana, ameríndia, asiática e europeia. O SNP rs7119634 apresentou MAF de 50% para o alelo G. Já os SNP rs10766743, rs10833528, rs6483735 e rs11025878 apresentaram MAF correspondente a 40% para os alelos C, C, A, A, respectivamente. Na população africana, o SNP rs4922735 apresentou maior

frequência alélica para o alelo C, correspondendo a 73%. Os SNP rs10766737 e rs1670644 demonstraram maior frequência na população ameríndia: ambos corresponderam a 69% para os alelos G e A, respectivamente. Na população asiática, o rs1981409 obteve maior frequência alélica, para o alelo T, correspondendo a 92%. Já na europeia, ambos, SNP rs1670644 e rs1429781, obtiveram a maior frequência para o alelo A correspondendo a 82%.

Tabela 2 – Descrição dos polimorfismos em *NELL1* na população estudada destacados de acordo com a função missense e provável impacto funcional.

SNP	A1	A2	Função	RegulomeDB pontuação	HWE	MAF	MAF das populações			
							AFR	AMR	ASN	EUR
rs8176788	A	G	missense	5	1	0.1289	0	0	0	0
rs11820003	A	G	missense	5	0.5825	0.04753	0,06	0,01	0	0
rs35809043	C	A	missense	7	0.4176	0.03797	0,06	0,01	0	0
rs8176786	A	G	missense	6	0.09455	0.02331	0,01	0,02	0,1	0,06
rs115437355	G	A	missense	7	1	0.009141	0,02	0	0	0
rs114638511	A	G	missense	5	1	0.005941	0,02	0	0	0
rs55926004	A	G	missense	5	1	0.005027	0	0	0	0
rs141323787	A	G	missense	5	1	0.003199	0	0	0	0
rs144658677	A	G	missense	4	1	0.002742	0	0	0	0
rs117839762	A	G	missense	5	1	0.002285	0	0	0	0,01
rs145891316	A	G	missense	5	1	0.001828	0	0	0	0
rs77273497	A	G	missense	7	1	0.001828	0	0	0	0
rs144555978	A	G	missense	7	1	0.001828	0	0	0	0
rs61150458	G	C	missense	5	1	0.0004575	0	0	0	0
rs143880987	A	G	missense	5	1	0.000457	0	0	0	0
rs140129150	G	C	missense	5	1	0.000457	0	0	0	0
rs150066751	A	C	missense	5	1	0.000457	0	0	0	0
rs140896088	G	A	missense	5	1	0.000457	0	0	0	0
rs201134228	A	G	missense	5	1	0.000457	0	0	0	0
rs10833465	A	C	intron	3a	0.2306	0.4799	0,38	0,39	0,36	0,51
rs908944	C	A	intron	3a	0.3854	0.4785	0,59	0,66	0,64	0,42
rs1516766	A	G	intron	3a	0.5106	0.4492	0	0	0	0
rs10766739	G	A	intron	3a	0.4454	0.4401	0,6	0,59	0,73	0,14

Frequência alélica e potencial regulatório de polimorfismos no gene NELL1 em uma população da Bahia – Brasil

SNP	A1	A2	Função	RegulomeDB	HWE	MAF	AFR	AMR	ASN	EUR
rs11025878	A	G	intron	3b	0.1748	0.4017	0,23	0,03	0,26	0,58
rs7117671	C	G	intron	2b	0.2502	0.3022	0,35	0,53	0,31	0,3
rs4923385	G	A	intron	3a	0.1764	0.2786	0,38	0,49	0,27	0,25
rs4576820	A	C	intron	3a	0.4555	0.2486	0,82	0,65	0,71	0,76
rs7126959	G	A	intron	3a	0.8833	0.2427	0,28	0,31	0,27	0,19
rs10833530	G	A	intron	3a	0.008201	0.2322	0,14	0,21	0,01	0,46
rs10741875	G	A	intron	3a	0.264	0.2249	0,91	0,58	0,91	0,64
rs61888073	C	G	intron	3b	0.8448	0.16	0,14	0,01	0,22	0,18
rs1516757	G	A	intron	3a	0.8269	0.1476	0,83	1	0,75	0,96
rs12802894	A	C	intron	3a	0.4888	0.1353	0,18	0,24	0,3	0,02
rs12418446	C	A	intron	3a	1	0.1211	0,22	0,17	0,17	0,05
rs1453986	G	A	intron	3a	0.1478	0.09735	0,02	0	0	0,17
rs7119816	G	A	intron	3a	0.3813	0.09332	0,01	0,07	0	0,18
rs78506269	G	A	intron	2b	1	0.06496	0,09	0,5	0,03	0,08
rs11820254	A	C	intron	3b	1	0.06307	0,02	0,03	0,02	0,16
rs55700742	T	A	intron	3a	0.6142	0.05855	0,09	0,02	0,12	0,01
rs79460927	G	A	intron	3a	1	0.05622	0,01	0	0	0,12
rs75590170	C	A	intron	3a	1	0.03291	0	0	0	0,03
rs80111754	T	A	intron	2c	1	0.02615	0,01	0,07	0,02	0,03

*Polimorfismo. A1: menor alelo; A2: alelo ancestral; MAF: frequência de menor alelo, função, pontuação RegulomeDb; HWE: equilíbrio de Hardy-Weinberg. Dados provenientes da base de dados do Projeto 1000 Genomas. AFR: africanos; AMR: ameríndios; ASN: asiáticos; EUR: europeus.

Fonte: dados da pesquisa.

A Tabela 2 apresenta os SNP que possuem função missense. Os SNPs que dispõem da função intrônica apresentaram impacto funcional significativo, correspondendo a 3a, 2b e 2c.

Tabela 3 – Descrição dos polimorfismos em *NELL-1* na população estudada, destacados de acordo com a literatura.

SNP	A1	A2	Função	RegulomeDB pontuação	HWE	MAF	MAF das populações				AUTORES
							AFR	AMR	ASN	EUR	
rs10766739	G	A	intron	3a	0.4454	0.4401	0,14	0,60	0,59	0,73	Wu ¹⁴ (2013)
rs10766743	C	A	intron	5	0.4886	0.409	0,08	0,60	0,52	0,75	Mathieu ¹⁵ (2015)
rs1793004	C	G	intron	5	0.2917	0.3515	0,68	0,69	0,48	0,73	Franke ¹⁶ (2007) /Amre ¹⁷ (2012)
rs11026076	G	A	intron	7	0.5382	0.3277	0,23	0,37	0,25	0,48	Van Ingen ¹⁸ (2016)
rs1429793	A	C	intron	5	1	0.2875	0,40	0,31	0,31	0,16	Connolly, Glessner, Hakonarson ¹⁹ (2013)
rs12279250	G	A	intron	5	0.05172	0.2779	0,12	0,3	0,27	0,46	Del-Aguila ²⁰ (2014)
rs10833509	A	C	intron	5	0.7947	0.2751	0,28	0,38	0,26	0,25	Cheng ² (2022)
rs4319515	G	A	intron	4	0.0192	0.2729	0,1	0,29	0,28	0,46	Del-Aguila ²⁰ (2014)
rs8176786	A	G	missense	6	0.09455	0.02331	0,01	0,02	0,1	0,06	Franke ¹⁶ (2007)

*Polimorfismo. A1: menor alelo; A2: alelo ancestral; MAF: frequência de menor alelo, função, pontuação RegulomeDb; HWE: equilíbrio de Hardy-Weinberg, Autores. Dados provenientes da base de dados do Projeto 1000 Genomas. AFR: africanos; AMR: ameríndios; ASN: asiáticos; EUR: europeus.

Fonte: dados da pesquisa.

A Tabela 3 apresenta os SNPs obtidos em nosso banco de dados e identificados na literatura, relacionados a doenças que podem estar associadas aos polimorfismos do gene *NELL1*, como: o câncer de pulmão de células não pequenas (CPNPC), descrito por Wu¹⁴ (2013); o distúrbio neuropsiquiátrico como transtorno bipolar, por Mathieu¹⁵ (2015); a doença inflamatória intestinal (DII) descrita por Franke¹⁶ (2007) e Amre¹⁷ (2012); a otite média aguda (OMA), Van Ingen¹⁸ (2016); o transtorno do espectro autista (TEA), Connolly, Glessner, Hakonarson¹⁹ (2013); as doenças metabólicas relacionadas aos triglicerídeos,

Del-Aguila²⁰ (2014); e envelhecimento ovariano, descrito por Cheng² (2022).

As frequências nas populações africana, ameríndia, asiática e europeia foram descritas. A variante rs10766739 apresentou MAF de 44% (alelo G) e obteve maior frequência na população europeia (73%), ameríndia (60%) e asiática (59%). Com relação ao impacto funcional, o SNP rs10766739 apresentou pontuação de 3a e foi encontrado, na literatura, como um gene candidato supressor de tumor.

DISCUSSÃO

O presente estudo descreveu a frequência alélica e o potencial regulatório dos polimorfismos do gene *NELL1*, em uma população de Salvador (Bahia). Além disso, considerando a miscigenação da população brasileira, que apresenta descendência africana, europeia e ameríndia, foi válido analisar a frequência dos SNPs dessa população, atrelados ao gene *NELL1*, que possam estar envolvidos com patologias descritas anteriormente em outras populações.

Como foi demonstrado na tabela 1, muitos polimorfismos apresentaram uma frequência entre 40% e 50% do alelo polimórfico. Entre eles, adicionalmente, os SNPs rs10833465 (alelo A), rs908944 (alelo C), rs1516766 (alelo A), rs10766739 (alelo G) e rs11025878 (alelo G) apresentam uma pontuação de 3 (RegulomeD); e dos 118 SNP que apresentaram o MAF entre 39% e 20% (tabela suplementar), o rs7117671 apresentou uma pontuação 2b; e os rs4923385, rs4576820, rs7126959, rs10833530 e rs10741875, uma pontuação 3a. Pontuações entre 1 e 3 estão relacionadas à probabilidade de um impacto funcional que pode afetar a ligação e a expressão de um alvo genético. A Tabela 2 apresenta polimorfismos que foram destacados devido à pontuação, baseada nas informações do Regulome Db e a função missense, que podem estar relacionadas a uma alteração funcional e regulatória.

Alguns SNPs do gene *NELL1* foram identificados na literatura, associados ao fenótipo de variadas doenças, como foi apresentado na Tabela 3. A primeira associação de *NELL1* em GWASs com doenças inflamatórias evidenciou a suscetibilidade do gene na doença inflamatória intestinal (DII), caracterizada por dois subtipos, doença de Crohn e colite ulcerativa²¹. O início e a progressão da DII são atribuídos à resposta imune desregulada da microbiota residente em um hospedeiro geneticamente suscetível^{16,17,21}. Estudos genéticos evidenciaram mais de 240 *loci* que conferem risco para DII^{16,17}. Entre esses genes, o *NELL1* foi demonstrado por GWASs como o mais suscetível. No estudo de Amre¹⁷ (2012), o SNP rs1793004 foi associado à doença inflamatória intestinal (DII)¹⁷. Além disso, um estudo dirigido por Franke¹⁶ (2007) evidenciou que o rs1793004 (alelo C), localizado no íntron 1 de *NELL1*, mostrou uma associação com significância sugestiva para a doença de Crohn e a colite ulcerativa¹⁶. Na população deste estudo, o rs1793004, alelo C, função missense, apresentou um MAF de 35%. A frequência desse SNP foi investigada na população africana (68%), ameríndia (69%), asiática (48%), e, na população europeia, apresentou um MAF de 73%. Adicionalmente, o rs8176786, localizado no éxon 10, apresentou associação sugestiva com Doença de Crohn. O rs8176786 (alelo A) foi pontuado, em nosso estudo, com função missense e com MAF de 2,3%. As frequências desse SNP, analisadas em outras populações, foram também consideradas baixas, sendo 1% para africanos, 2% para ameríndios, 10% para asiáticos e 6% para europeus (Tabela 3).

Outra condição inflamatória em que fatores genéticos são investigados é a otite media aguda (OMA). A causa da OMA envolve múltiplos aspectos do patógeno e do hospedeiro, e fatores genéticos também podem estar associados²². Van Ingen¹⁸ (2016) realizaram um GWAS sobre a OMA, em uma população americana. Diversos genes foram investigados e foram descobertos oito genes com significado sugestivo. O SNP rs11026076, do gene *NELL1*, apresentou sinal sugestivo para associação com a otite media aguda¹⁸. Em nossa população de estudo, o SNP rs11026076 apresentou uma frequência de 32%. Na população africana, a frequência foi de 23%, na ameríndia 37%, na asiática 25% e na europeia, o maior valor: 48% (Tabela 3).

Estudos demonstram que *NELL1* exibe alta expressão em tecidos cerebrais humanos e de camundongos, e desempenha um papel importante na morfogênese do crânio²³⁻²⁵. O papel funcional do *NELL1* começou a ser descrito quando se estabeleceu uma relação entre a expressão do *NELL1* e a craniossinostose coronal unilateral, que é uma condição patológica em humanos, e, desde então, diversos estudos passaram a explorar as funções do *NELL1*^{3,23-25}. Estudos realizados com a proteína NELL-1, na função óssea, demonstraram seu efeito como um potente osteoindutor, ou seja, sua capacidade de recrutar células imaturas e estimulá-las a se tornarem pré-osteoblastos²⁵⁻²⁷. As investigações contínuas, através das pesquisas, atribuíram múltiplas funções ao *NELL1* em processos fisiológicos e patológicos: função na esquelotogênese craniofacial e apendicular; potente fator pró-osteogênico para a regeneração do tecido osteocondral; efeitos antiadipogênicos quando aplicado em condições de regeneração óssea; e potencial terapêutico na osteoartrite, devido a seus efeitos pró-osteogênicos e anti-inflamatórios²⁵⁻²⁹.

Há suposições de que o *NELL1* possa apresentar função importante em distúrbios neuropsiquiátricos e neurodegenerativos². Uma investigação foi conduzida por Mathieu¹⁵ (2015), com 281 pacientes da França que apresentavam o diagnóstico clínico para transtorno bipolar. Os pesquisadores selecionaram a reatividade emocional para quantificar a gravidade do transtorno bipolar. No GWAS, o rs10766743 (alelo T), localizado no íntron 5 do *NELL1*, permaneceu o único SNP com significância sugestiva, sendo necessário mais experimentos para verificar o papel do *NELL1* no transtorno bipolar¹⁵. Na população de nosso estudo, o rs10766743 apresentou frequência de 40%, alelo C. A frequência desse SNP nas populações investigadas foi baixa para a africana (8%), porém elevada para as demais: ameríndia (60%), asiática (52%) e europeia com o maior valor: 75% (Tabela 3).

Adicionalmente, foi investigado o transtorno do espectro autista (TEA), condição caracterizada por comportamentos sensorio-motores repetitivos e incomuns, além do déficit na comunicação social³⁰. Alguns estudos evidenciam que o TEA apresenta grande influência hereditária^{19,30}. Connolly, Glessner, Hakonarson¹⁹ (2013)

realizaram GWAS para identificar genes suscetíveis ao autismo. Dentre os genes apontados como candidatos, o *NELL1* apresentou associação a desmaios e convulsões. O rs1429793 obteve maior significância em todo o genoma^{19,30}. Em nossa população de estudo, o rs1429793 (alelo A) apresentou um MAF de 28%. A frequência do alelo polimórfico foi maior para a população africana (40%), igual para ameríndia (31%) e asiática (31%), e a europeia apresentou o menor valor: 16% (Tabela 3).

O câncer de pulmão de células não pequenas (CPNPC) é um dos tipos mais comuns de câncer de pulmão e é responsável por quase 80% dos casos³¹. Apesar de seu principal fator de risco ser o tabagismo, existe um percentual de indivíduos não fumantes que apresentaram a doença, levando à hipótese de um perfil genético sugestivo^{14,31}. Diante disso, Wu¹⁴ (2013) decidiram investigar variantes genéticas associadas ao CPNPC através de um GWAS¹⁴. Alguns genes candidatos, a partir desse estudo, foram replicados em 1.256 pacientes taiwaneses. Dentre os genes avaliados, o *NELL1* surgiu como um gene candidato supressor de tumor no CPNPC. O SNP rs10766739 foi classificado entre os principais *loci* gênicos candidatos, apresentando um MAF de 25%¹⁴. Em nosso estudo, o rs10766739 foi o SNP que apresentou maior MAF, com 44%, com pontuação 3a, no banco de dados do Regulome DB, o que pode relacionar esse polimorfismo com alterações regulatórias e funcionais. Os resultados das frequências nas populações foram menores para a população africana (14%), 60% para a ameríndia, 59% para a asiática e maior frequência para europeus: 73% (Tabela 3).

Outras condições passaram a ser investigadas, como doenças metabólicas relacionadas aos triglicerídeos³². Os triglicerídeos (TGs) são lipoproteínas circulantes, que funcionam como um reservatório de energia para o organismo em que se depositam, no tecido adiposo e muscular de alguns órgãos, como o fígado, o coração e o músculo esquelético, quando em repouso^{20,32}. Del-Aguila²⁰ (2014) realizaram um estudo em que se avaliou a resposta dos TG ao fármaco hidroclorotiazida, utilizado no tratamento de pacientes com hipertensão arterial, que pode causar hipertrigliceridemia²⁰. Esse estudo de GWAS foi realizado em duas populações compostas por 425 europeus-americanos e 342 afro-americanos. Dois SNPs, rs12279250 e rs4319515, ambos localizados no íntron 16 do gene *NELL1*, mostraram ampla significância genômica no metabolismo lipídico. Os investigadores elucidaram que a hidroclorotiazida poderia regular a diferenciação de adipócitos através do gene *NELL1*, uma vez que reprimiu a diferenciação adipogênica. Por conseguinte, em nossa população, ambos SNPs foram estudados, e o rs12279250 apresentou MAF de 27%. As frequências foram de 12% na população africana, 30% para a ameríndia, 27% para a asiática e 46% para a europeia. Já o rs4319515 obteve MAF de 27%. A frequência, na população africana, foi de 10%, na ameríndia de 29%, na asiática de 28% e na europeia de 46% (Tabela 3).

A associação dos polimorfismos no gene *NELL1* ao envelhecimento ovariano também foi investigada. Cheng² (2022) descreveram, em seu estudo, uma significância sugestiva do SNP rs10833509 (alelo A). Em nosso estudo, esse SNP apresentou uma frequência de menor alelo de 27%, e a frequência, nas populações, foi de 28%; para a africana, 38%; para a ameríndia, 38%; para a asiática 26%, e 25 % para a europeia.

CONCLUSÃO

Este foi o primeiro estudo que descreveu as diferentes frequências e os potenciais regulatórios de polimorfismos no gene *NELL1* em brasileiros. Polimorfismos nesse gene foram descritos anteriormente, associados a importantes processos fisiológicos e a variadas doenças em outras populações, incluindo distúrbios metabólicos relacionadas aos ossos, condições inflamatórias, doenças neuropsiquiátricas, distúrbios lipídicos e câncer. Mais investigações referentes aos mecanismos regulatórios e funcionais desse gene são necessárias, incluindo investigações que avaliem seu papel no processo de saúde e doença, em especial, no contexto de condições inflamatórias e distúrbios metabólicos relacionados aos ossos.

REFERÊNCIAS

1. *NELL1* neural EGFL like 1 [*Homo sapiens* (human)]. NCBI. 2022.
2. Cheng X, Shi J, Jia Z, Ha P, Soo C, Ting K, et al. *NELL-1* in genome-wide association studies across human diseases. *Am J Pathol*. 2022 Mar;192(3):395-405. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2021.11.006>
3. Ting K, Vastardis H, Mulliken JB, Soo C, Tieu A, Do H, et al. Human *NELL-1* expressed in unilateral coronal synostosis. *J Bone Miner Res*. 1999;14(1):80-9. doi: <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.1.80>
4. Li C, Zhang X, Zheng Z, Nguyen A, Ting K, Soo C. *Nell-1* is a key functional modulator in osteochondrogenesis and beyond. *J Dent Res*. 2019;98(13):1458-63. doi: [10.1177/0022034519882000](https://doi.org/10.1177/0022034519882000)
5. Pakvasa M, Alverdy A, Mostafa S, Wang E, Fu L, Li A, et al. Neural EGF-like protein 1 (*NELL-1*): signaling crosstalk in mesenchymal stem cells and applications in regenerative medicine. *Genes Dis*. 2017;4:127-37. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2017.07.006>
6. Lee JH, Song YM, Min SK, Lee HJ, Lee HL, Kim MJ, et al. *NELL-1* increased the osteogenic differentiation and mRNA expression of spheroids composed of stem cells. *Medicina*. 2021 Jun 8;57(6):586. doi: <https://doi.org/10.3390/medicina57060586>
7. Li C, Zheng Z, Ha P, Jiang W, Berthiaume EA, Lee S, et al. Neural EGFL like 1 as a potential pro-chondrogenic, anti-inflammatory dual functional disease modifying osteoarthritis drug. *Biomaterials*. 2020;226:119541. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119541>
8. Courivaud C, Saas P, Ducloux D. Polymorphismes génétiques: comment interpréter les études? *Nephrol Ther*. 2012 Jun;8(3):141-5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2011.07.411>
9. Ramírez-Bello J, Jiménez-Morales M. Implicaciones funcionales de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes codificantes de proteínas y no codificantes en enfermedades multifactoriales. *Gac Med Mex*. 2017;153(2):238-50.

10. Lappalainen T, MacArthur DG. From variant to function in human disease genetics. *Science*. 2021 Sep;373(6562):1464-8. doi: <https://doi.org/10.1126/science.abi8207>
11. Jhamb D, Magid-Slav M, Hurlle MR, Agarwal P. Pathway analysis of GWAS loci identifies novel drug targets and repurposing opportunities. *Drug Discov Today*. 2019 Jun;24(6):1232-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.024>
12. Tam V, Patel N, Turcotte M, Bossé Y, Paré G, Meyre D. Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*. 2019;20:467-84. doi: <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0127-1>
13. Hong KW, Shin MS, Ahn YB, Lee HJ, Kim HD. Genome-wide association study on chronic periodontitis in Korean population: results from the Yangpyeong health cohort. *J Clin Periodontol*. 2015;42:703-10. doi: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12437>
14. Wu X, Wang L, Ye Y, Aakre JA, Pu X, Chang GC, et al. Genome-wide association study of genetic predictors of overall survival for non-small cell lung cancer in never smokers. *Cancer Res*. 2013;73:4028e-38. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-12-4033>
15. Mathieu F, Etain B, Dizier MH, Lajnef M, Lathrop M, Cabon C, et al. Genetics of emotional reactivity in bipolar disorders. *J Affect Disord*. 2015;188:101e106. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.08.037>
16. Franke A, Hampe J, Rosenstiel P, Becker C, Wagner F, Häslér R, et al. Systematic association mapping identifies NELL1 as a novel IBD disease gene. *PLoS ONE*. 2007;2:e691. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000691>
17. Amre DK, Mack DR, Israel D, Krupoves A, Costea I, Lambrette P, et al. NELL1, NCF4, and FAM92B genes are not major susceptibility genes for Crohn's disease in Canadian children and young adults. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18:529-35. doi: <https://doi.org/10.1002/ibd.21708>
18. Van Ingen G, Li J, Goedegebure A, Pandey R, Rose Li Y, March ME, et al. Genome-wide association study for acute otitis media in children identifies FNDC1 as disease contributing gene. *Nat Commun*. 2016;7:1-7. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms12792>
19. Connolly JJ, Glessner JT, Hakonarson H. A genome-wide association study of autism incorporating autism diagnostic interview-revised, autism diagnostic observation schedule, and social responsiveness scale. *Child Dev*. 2013;84:17-e33. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1467-8624.2012.01838.x>
20. Del-Aguila JL, Beitelshes AL, Cooper-Dehoff RM, Chapman AB, Gums JG, Bailey K. Genome-wide association analyses suggest NELL1 influences adverse metabolic response to HCTZ in African Americans. *Phar – macogenomics J*. 2014;14:35-e40. doi: <https://doi.org/10.1038/tpj.2013.3>
21. Furey TS, Sethupathy P, Sheikh SZ. Redefining the IBDs using genome-scale molecular phenotyping. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16:296-e311x. doi: <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0118-x>
22. Coker TR, Chan LS, Newberry SJ, Limbos MA, Suttorp MJ, et al. Diagnosis, microbial epidemiology, and antibiotic treatment of acute otitis media in children: a systematic review. *JAMA*. 2010;304:2161-e9. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1651>
23. Zhang X, Zara J, Siu RK, Ting K, Soo C. The role of NELL-1, a growth factor associated with craniosynostosis, in promoting bone regeneration. *J Dent Res*. 2010;89:865-e78. doi: [10.1177/0022034510376401](https://doi.org/10.1177/0022034510376401)
24. Wang B, Wu Y, Yu H, Jiang L, Fang B, Guo Q. The effects of NELL on corticotomy-assisted tooth movement and osteogenesis in a rat model. *Biomed Mater Eng*. 2018;29:757-e71. doi: <https://doi.org/10.3233/bme-181021>
25. Li C, Zheng Z, Ha P, Chen X, Jiang W, Sun S, et al. Neurexin superfamily cell membrane receptor contactin – associated protein like-4 (Cntnap4) is involved in neural EGFL-like 1 (Nell-1)-responsive osteogenesis. *J Bone Miner Res*. 2018; 33:1813-e25. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.3524>
26. James AW, Shen J, Zhang X, Asatrian G, Goyal R, Kwak JH, et al. NELL-1 in the treatment of osteoporotic bone loss. *Nat Commun*. 2015; 6:7362-e75. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms8362>
27. Zhang J, Chen Y, Xu J, Wang J, Li C, Wang L. Tissue engineering using 3D printed nano-bioactive glass loaded with NELL1 gene for repairing alveolar bone defects. *Regen Biomater*. 2018;5:213-e20. doi: <https://doi.org/10.1093/rb/rby015>
28. Qi H, Kim JK, Ha P, Chen X, Chen E, Chen Y, et al. Inactivation of Nell-1 in chondrocytes significantly impedes appendicular skeletogenesis. *J Bone Miner Res*. 2019;34:533-e46. doi: [10.1002/jbmr.3615](https://doi.org/10.1002/jbmr.3615)
29. Karasik D, Hsu YH, Zhou Y, Cupples LA, Kiel DP, Demissie S. Genome-wide pleiotropy of osteoporosis-related phenotypes: the Framingham study. *J Bone Miner Res*. 2010;25:1555-e63. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.38>
30. Lord C, Elsabbagh M, Baird G, Veenstra-Vanderweele J. Seminar autism spectrum disorder. *Lancet*. 2018;392:508-e20. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)31129-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)31129-2)
31. Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, Kwon R, Curran WJ, Wu YL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *Lancet*. 2017;389: 299-e311. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)30958-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)30958-8)
32. Rudkowska I, Guénard F, Julien P, Couture P, Lemieux S, Barbier O, et al. Genome-wide association study of the plasma triglyceride response to an n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation. *J Lipid Res*. 2014;55:1245-e53. doi: <https://doi.org/10.1194/jlr.m045898>

Submetido em: 29/11/2022

Aceito em: 30/11/2022

Frequência alélica e potencial regulatório de polimorfismos
no gene NELL1 em uma população da Bahia – Brasil

Tabela Suplementar – Descrição dos polimorfismos em NELL1.

SNP	A1	A2	FUNÇÃO	RDB	HWE	MAF	SNP	A1	A2	FUNÇÃO	RDB	HWE	MAF
rs4922988	C	A	intron	6	0.6569	0.3999	rs2403640	C	G	intron	4	1	0.1048
rs10766719	A	C	intron	5	0.4894	0.3995	rs11025696	A	G	intron	7	0.5988	0.1015
rs4644637	G	A	intron	7	0.1687	0.3995	rs16906971	G	A	intron	7	0.09224	0.09918
rs1611930	A	G	intron	4	0.3592	0.399	rs72943175	G	A	intron	5	0.1495	0.09918
rs7927068	G	A	intron	7	0.7294	0.3985	rs7103981	T	A	intron	7	0.7854	0.09881
rs34835859	C	A	intron	6	0.6467	0.3953	rs56218921	G	A	intron	7	0.06465	0.09826
rs7937542	G	A	intron	6	0.3055	0.3944	rs1453986	G	A	intron	3a	0.1478	0.09735
rs10766829	A	C	intron	5	1	0.3944	rs16907291	G	A	intron	5	0.1571	0.09415
rs10833433	C	A	intron	5	0.6528	0.3876	rs10500905	G	A	intron	5	0.4949	0.09369
rs4922734	G	A	intron	7	0.06512	0.3871	rs7119816	G	A	intron	3a	0.3813	0.09332
rs10766721	A	G	intron	6	0.4943	0.3862	rs11025989	A	C	intron	6	0.7295	0.09186
rs10500898	A	G	intron	4	0.9085	0.3844	rs16907455	G	A	intron	7	1	0.09095
rs1945427	G	A	intron	7	0.3592	0.382	rs7119256	A	G	intron	7	0.1376	0.09049
rs10833536	T	A	intron	7	0.8142	0.3784	rs12294377	A	C	intron	5	0.6894	0.09049
rs2040315	C	A	intron	5	0.4833	0.3771	rs16907044	G	A	intron	7	0.7534	0.09004
rs12296077	A	G	intron	5	0.6345	0.3755	rs327034	G	A	intron	5	0.1275	0.08775
rs1544266	G	A	intron	4	1	0.3716	rs2896618	C	G	intron	7	0.7295	0.08775
rs5004445	C	A	intron	5	0.8179	0.3707	rs72941930	T	A	intron	6	0.2671	0.08724
rs7481267	A	G	intron	5	0.1638	0.3697	rs12796497	A	G	intron	5	0.5302	0.08684
rs4338524	G	A	intron	7	0.8142	0.3679	rs6483725	A	C	intron	6	0.3317	0.0841
rs1400366	A	G	intron	5	0.5656	0.367	rs77249142	A	C	intron	5	0.7089	0.08333
rs7109477	G	A	intron	7	0.728	0.3656	rs2363	A	G	intron	6	0.2632	0.08181
rs1554367	A	G	intron	5	0.2932	0.3579	rs11025965	A	G	intron	6	0.7187	0.08051
rs7120820	A	G	intron	6	0.557	0.3519	rs11025951	G	A	intron	6	1	0.07907
rs7925869	A	C	intron	5	0.4136	0.3492	rs115231876	G	C	intron	7	0.2767	0.07685
rs7940204	A	G	intron	7	1	0.3492	rs79339944	G	C	intron	5	1	0.0764
rs7108916	C	A	intron	5	0.5517	0.3463	rs10833426	A	C	intron	5	0.2885	0.07587
rs5024008	A	T	intron	6	0.7268	0.3456	rs60131265	A	G	intron	6	0.6894	0.07495
rs7105756	A	G	intron	6	0.1957	0.341	rs75651161	A	G	intron	6	0.6337	0.07495
rs2105791	G	A	intron	6	0.7067	0.3373	rs10437609	T	A	intron	7	0.4096	0.07411
rs7103926	G	A	intron	7	0.2221	0.3355	rs536782215	C	G	intron	6	0.4009	0.07274
rs11025988	A	G	intron	6	1	0.33	rs188638876	A	G	intron	5	0.2277	0.07274
rs1001199	A	C	intron	5	0.5355	0.33	rs78604322	A	G	intron	7	0.1902	0.07176
rs11026076	G	A	intron	7	0.5382	0.3277	rs58674762	G	A	intron	7	0.3808	0.07084
rs1516742	G	A	intron	5	0.2695	0.325	rs116550437	A	C	intron	5	0.121	0.07038
rs7930660	A	G	intron	5	0.2069	0.3172	rs12146653	G	A	intron	7	1	0.06868
rs1914250	G	A	intron	6	0.8978	0.3154	rs7114554	A	G	intron	4	0.1221	0.06822
rs7120935	A	G	intron	7	0.7045	0.3108	rs11025691	T	A	intron	7	1	0.0681
rs7130084	A	G	intron	5	0.07463	0.3085	rs1945331	A	G	intron	5	0.3878	0.0681
rs77258944	C	A	intron	5	0.8958	0.3076	rs72935270	G	A	intron	5	0.7074	0.06764
rs2280360	A	G	intron	5	0.9001	0.3067	rs17298537	G	A	intron	5	1	0.06673
rs11026038	G	A	intron	7	1	0.3067	rs7931222	G	A	intron	7	1	0.06627
rs10833428	A	G	intron	5	1	0.3039	rs115139590	A	G	intron	2b	1	0.06581
rs7117671	C	G	intron	2b	0.2502	0.3022	rs12279116	A	G	intron	2b	0.6272	0.06581
rs10734296	C	A	intron	6	0.7024	0.3019	rs16907971	A	G	intron	5	0.4437	0.06536
rs72944723	A	G	intron	5	1	0.3003	rs78506269	G	A	intron	2b	1	0.06496
rs11026097	G	A	intron	6	1	0.2973	rs201567630	A	T	intron	3b	0.06735	0.06444
rs116092797	C	A	intron	5	0.8924	0.2972	rs56951940	A	G	intron	7	1	0.06399
rs10500907	A	G	intron	7	0.6911	0.2971	rs10500900	A	G	intron	6	0.4096	0.06353
rs1791878	C	G	intron	4	0.2946	0.2952	rs11820254	A	C	intron	5	1	0.06307
rs12286775	G	A	intron	5	0.504	0.2948	rs7928474	A	G	intron	5	0.08465	0.06261
rs12282210	G	A	intron	7	1	0.2934	rs111503592	A	C	intron	5	0.05762	0.0609
rs7104588	G	A	intron	4	0.6105	0.2902	rs17305428	G	A	intron	5	0.1563	0.06079
rs1429793	A	C	intron	5	1	0.2875	rs1945421	A	G	intron	4	0.3801	0.06033
rs11026113	A	G	intron	5	0.5851	0.287	rs34238434	C	G	intron	6	0.6276	0.05993
rs4922728	A	G	intron	7	0.2874	0.2843	rs79727905	T	A	intron	5	0.3015	0.05941
rs1454002	G	A	intron	7	0.8966	0.2793	rs8176795	T	A	intron	5	1	0.05941
rs4923385	A	A	intron	3a	0.1764	0.2786	rs55700742	A	G	intron	5	0.6142	0.05855
rs4614448	A	G	intron	7	1	0.2783	rs7941272	C	A	intron	5	0.09973	0.05804

rs12279250	G	A	intron	5	0.05172	0.2779	rs16906840	G	A	intron	6	1	0.05804
rs1984369	C	A	intron	6	0.7801	0.2755	rs58212385	G	A	intron	3a	0.3239	0.05804
rs10833509	A	C	intron	5	0.7947	0.2751	rs111730766	A	G	intron	4	0.614	0.05804
rs2138599	A	G	intron	5	0.781	0.2747	rs16907775	C	A	intron	5	1	0.05759
rs1670642	G	A	intron	6	1	0.2742	rs61880792	G	A	intron	5	0.5369	0.05672
rs7952026	G	A	intron	5	1	0.2742	rs79460927	A	C	intron	5	1	0.05622
rs7943038	G	A	intron	5	1	0.2719	rs11026054	A	G	intron	5	0.5136	0.0554
rs373573035	G	A	intron	6	0.5754	0.2683	rs34820782	A	G	intron	6	1	0.05347
rs7933730	A	G	intron	5	0.8922	0.2651	rs74808649	G	A	intron	5	0.4659	0.05302
rs7125832	G	C	intron	7	0.7843	0.2646	rs11025870	A	G	intron	5	0.6119	0.05302
rs11025945	G	A	intron	4	0.3089	0.2642	rs78330555	A	G	intron	4	0.4659	0.05302
rs1945442	A	G	intron	7	0.8869	0.2591	rs74477255	G	A	intron	6	1	0.05302
rs1516755	G	A	intron	7	0.6646	0.2564	rs12286807	G	A	intron	7	1	0.05256
rs7127622	C	A	intron	7	0.2361	0.2532	rs1914248	G	A	intron	6	0.6494	0.05256
rs4576820	A	C	intron	3a	0.4555	0.2486	rs12276433	C	A	intron	6	0.4418	0.05165
rs10833522	G	A	intron	7	1	0.2482	rs4923056	G	A	intron	7	0.3691	0.05027
rs1607098	A	G	intron	7	0.4815	0.2459	rs72960097	A	T	intron	6	1	0.05027
rs7126959	G	A	intron	3a	0.8833	0.2427	rs80342640	A	G	intron	6	1	0.04941
rs12279626	T	A	intron	7	0.1684	0.2422	rs1465603	G	A	intron	5	0.4418	0.04936
rs11601571	G	A	intron	5	0.7743	0.2406	rs12277814	A	C	intron	6	0.6046	0.04808
rs7113280	A	G	intron	5	0.06014	0.2404	rs73452226	C	A	intron	5	0.1162	0.04753
rs1791847	A	G	intron	6	1	0.2363	rs11820003	C	A	intron	5	0.5825	0.04707
rs58695140	A	C	intron	4	0.6242	0.2363	rs7945141	G	A	intron	5	0.5825	0.04707
rs1947421	A	G	intron	5	0.1722	0.2354	rs17305393	A	T	intron	5	0.5825	0.04707
rs4569005	A	G	intron	6	1	0.234	rs7925240	A	G	intron	7	1	0.04707
rs7111284	A	G	intron	5	0.296	0.2299	rs12293839	G	A	intron	7	0.3933	0.0457
rs1791810	G	A	intron	5	0.7635	0.2281	rs77111705	A	G	intron	6	1	0.04445
rs10741875	G	A	intron	3a	0.264	0.2249	rs79682214	C	A	intron	7	0.4659	0.04388
rs4569004	G	C	intron	6	0.8742	0.223	rs77382604	G	A	intron	5	0.5369	0.04342
rs1557461	G	A	intron	5	0.5374	0.2212	rs78681693	G	A	intron	6	0.5369	0.04296
rs10833560	A	G	intron	7	0.5001	0.2176	rs115621630	G	A	intron	7	0.5369	0.0425
rs7128766	A	G	intron	5	0.7468	0.2157	rs74814896	A	T	intron	7	0.07932	0.0425
rs11605646	C	G	intron	5	0.5374	0.2157	rs1945330	G	A	intron	5	1	0.04205
rs75491195	C	A	intron	5	0.3884	0.2153	rs78633883	G	A	intron	6	1	0.04205
rs8176791	A	C	intron	5	0.7429	0.2139	rs77795294	G	A	intron	5	0.6046	0.04205
rs7116826	G	A	intron	7	1	0.2112	rs76939703	G	C	intron	7	0.3089	0.04205
rs10833542	A	C	intron	7	0.7361	0.2066	rs16907392	G	A	intron	5	1	0.04159
rs12271249	G	A	intron	6	1	0.2043	rs2403645	A	G	intron	6	0.4659	0.04113
rs11820583	G	A	intron	7	0.815	0.2034	rs79351079	G	A	intron	5	0.5599	0.04113
rs1792984	G	A	intron	6	1	0.2029	rs58312861	G	A	intron	7	0.1308	0.04068
rs12578081	A	T	intron	6	1	0.2024	rs7934072	A	G	intron	7	1	0.04068
rs4617579	G	A	intron	6	1	0.1988	rs72951492	A	G	intron	7	1	0.04022
rs4923221	G	A	intron	7	1	0.1965	rs75164307	A	G	intron	5	0.5599	0.03976
rs2511366	A	C	intron	6	1	0.1961	rs77150412	T	A	intron	5	0.1464	0.03976
rs73457323	A	G	intron	4	1	0.1961	rs11026054	A	C	intron	5	0.5136	0.03931
rs10766771	G	A	intron	7	1	0.1956	rs73459546	G	A	intron	6	0.4659	0.03839
rs1453988	G	A	intron	6	1	0.1956	rs35809043	A	C	intron	7	0.4176	0.03793
rs1400373	A	G	intron	7	0.7468	0.1929	rs80210412	G	C	intron	5	0.2974	0.03751
rs527482175	A	G	intron	6	1	0.192	rs116685934	A	G	intron	6	1	0.03702
rs12576288	A	C	intron	6	1	0.192	rs12801681	A	C	intron	5	1	0.03702
rs6483743	A	T	intron	7	1	0.1901	rs10833452	A	G	intron	6	1	0.03656
rs12792491	A	C	intron	5	1	0.1878	rs79624401	A	G	intron	5	0.1026	0.03656
rs10833498	G	A	intron	7	1	0.1851	rs77483698	A	G	intron	6	1	0.03611
rs919476	A	G	intron	6	1	0.1839	rs76863810	A	G	intron	5	0.4659	0.03611
rs10766816	C	A	intron	7	1	0.1805	rs77828112	G	A	intron	7	0.4659	0.03611
rs1670629	A	G	intron	5	0.9126	0.1778	rs12277614	A	G	intron	5	0.3691	0.03611
rs11601433	A	C	intron	5	0.3813	0.1696	rs11025691	A	G	intron	4	1	0.03428
rs4923592	A	C	intron	5	0.4418	0.1686	rs113987552	A	G	intron	7	0.2974	0.03428
rs1715282	C	A	intron	7	1	0.1668	rs17232932	A	G	intron	5	0.2742	0.03382
rs10833507	G	A	intron	5	0.9105	0.1653	rs1901944	A	C	intron	5	0.3933	0.03382
rs7101364	A	G	intron	4	0.8775	0.16	rs17298901	G	A	intron	7	1	0.03382
rs10741857	A	G	intron	5	0.4176	0.1595	rs75590170	C	A	intron	3a	1	0.03291

Frequência alélica e potencial regulatório de polimorfismos
no gene NELL1 em uma população da Bahia – Brasil

rs7115088	C	A	intron	5	1	0.1595	rs79355584	A	G	intron	7	0.05801	0.03245
rs959469	T	A	intron	7	1	0.1569	rs145112118	A	G	intron	5	0.2742	0.03245
rs199896650	G	A	intron	5	1	0.1568	rs61886263	G	A	intron	5	0.3211	0.03245
rs10833511	C	A	intron	5	1	0.1563	rs16907973	G	A	intron	6	0.3211	0.03199
rs12289793	G	A	intron	5	0.6467	0.1559	rs34361009	A	G	intron	7	1	0.03108
rs200051675	T	A	intron	5	0.7534	0.1532	rs117821945	G	A	intron	5	0.4418	0.03108
rs10833510	A	G	intron	7	1	0.149	rs77989456	A	G	intron	5	1	0.03016
rs7934374	G	A	intron	5	0.5825	0.1481	rs61883261	A	T	intron	5	1	0.02973
rs1516757	G	A	intron	3a	1	0.1476	rs79090931	A	G	intron	5	1	0.02971
rs12802688	C	A	intron	5	1	0.1472	rs201526745	A	C	intron	6	1	0.02949
rs58665817	A	C	intron	5	1	0.144	rs114514959	A	G	intron	5	1	0.02925
rs12277453	A	G	intron	6	1	0.1417	rs17232778	A	G	intron	5	1	0.02879
rs11026071	A	C	intron	5	1	0.1417	rs12279157	C	A	intron	7	1	0.02834
rs11824795	A	G	intron	4	0.4659	0.1415	rs79245106	G	A	intron	6	0.6242	0.02788
rs7104150	T	A	intron	7	0.8009	0.1406	rs11025906	A	G	intron	5	1	0.02742
rs7103801	G	C	intron	5	0.6272	0.1385	rs193257387	A	T	intron	6	1	0.02742
rs1945328	G	A	intron	7	0.09455	0.1385	rs57350925	A	C	intron	6	1	0.02742
rs1715267	C	G	intron	5	1	0.1383	rs77849732	A	G	intron	5	1	0.02701
rs12786220	A	G	intron	5	0.3838	0.1376	rs72939972	C	A	intron	7	1	0.02697
rs11025927	A	G	intron	4	0.7429	0.1363	rs201609733	A	G	intron	6	0.2742	0.02697
rs9630161	A	G	intron	5	1	0.1357	rs117180838	T	A	intron	6	1	0.02697
rs12802894	A	C	intron	3a	1	0.1353	rs35086137	C	A	intron	5	1	0.02697
rs4641471	A	G	intron	7	1	0.1332	rs1454005	A	C	intron	5	0.2513	0.02651
rs7113875	A	G	intron	6	0.4659	0.1321	rs80111754	T	A	intron	2c	1	0.02615
rs327025	G	A	intron	5	0.2069	0.1317	rs79219280	A	C	intron	7	0.345	0.02605
rs73459508	G	A	intron	5	0.4659	0.1289	rs112241997	A	C	intron	5	1	0.02514
rs8176788	T	A	intron	5	1	0.1268	rs79536737	A	G	intron	7	0.2982	0.02477
rs4151056	C	A	intron	7	1	0.1261	rs114536841	A	G	intron	5	1	0.02475
rs7111261	A	G	intron	5	1	0.1268	rs74391423	A	G	intron	7	1	0.02468
rs17305372	A	G	intron	5	1	0.1261	rs77064585	G	A	intron	6	1	0.02468
rs113006460	A	G	intron	5	1	0.1243	rs114074326	G	C	intron	6	1	0.02427
rs1791827	A	C	intron	6	0.2107	0.1243	rs866159155	T	A	intron	6	1	0.02377
rs58217451	G	A	intron	5	0.2221	0.1239	rs16907994	C	G	intron	6	1	0.02377
rs4531470	A	C	intron	7	1	0.1239	rs61885513	T	A	intron	5	1	0.02377
rs76433159	C	A	intron	4	0.5517	0.1229	rs115746668	G	A	intron	7	1	0.02331
rs4488195	G	A	intron	5	1	0.1225	rs8176786	A	G	intron	6	0.8448	0.02331
rs4531469	C	A	intron	3a	1	0.122	rs77124305	C	G	intron	7	1	0.02208
rs408592	A	G	intron	5	0.1542	0.1211	rs74326837	G	A	intron	6	0.1864	0.02198
rs6483778	A	C	intron	7	0.121	0.1207	rs116607306	A	G	intron	7	1	0.02194
rs2063916	A	G	intron	5	0.4211	0.1202	rs367996685	T	A	intron	5	1	0.02194
rs2187520	A	C	intron	6	1	0.1139	rs7945288	G	A	intron	6	1	0.0215
rs55785587	G	A	intron	7	0.442	0.1138	rs77878969	A	G	intron	7	1	0.02148
rs11026041	A	G	intron	5	0.07707	0.1133	rs111421366	G	A	intron	5	1	0.02102
rs11025963	G	A	intron	5	0.7831	0.1115	rs12291894	A	G	intron	5	1	0.02057
rs75516977	G	A	intron	6	0.4082	0.1092	rs114524651	G	A	intron	6	0.1864	0.02011
rs7482901	A	C	intron	6	0.2885	0.1079	rs80179443	A	T	intron	5	1	0.02011
rs4420262	G	A	intron	5	0.227	0.1079	rs114674823	G	A	intron	5	1	0.03611
rs4362140	A	C	intron	4	0.227	0.1074	rs570394172	A	T	intron	7	0.07932	0.02011
rs78864240	A	G	intron	7	1	0.1051	rs200309891	A	G	intron	7	1	0.18412

*Polimorfismo, A1: menor alelo, A2: alelo ancestral, função, RDB: pontuação RegulomeDb, HWE: equilíbrio de Hardy-Weinberg, MAF: frequência de menor alelo.