

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Expressão de genes relacionados à obesidade e
inflamação em gestantes e adiposidade dos conceptos**

Patrícia Yury Nakandakare

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Helen de Carvalho Rondó

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero

**São Paulo
2019**

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Expressão de genes relacionados à obesidade e
inflamação em gestantes e adiposidade dos conceptos**

Patrícia Yury Nakandakare

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Helen de Carvalho Rondó

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Macedo Rogero

**Versão revisada
São Paulo
2019**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

RESUMO

NAKANDAKARE, P.Y. **Expressão de genes relacionados à obesidade e inflamação em gestantes e adiposidade dos conceptos.** 2019. Dissertação - Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2019.

O sobrepeso/obesidade é uma condição multifatorial e poligênica que pode resultar em desequilíbrio calórico. Uma vez instalada, a obesidade tende a se manter, de modo que a prevenção figura como principal recurso e, a compreensão das causas, essencial. Este estudo teve o objetivo de avaliar a associação da expressão de genes relacionados à obesidade, inflamação e perfil lipídico em gestantes com sobrepeso/obesidade e eutróficas, na adiposidade dos recém-nascidos. Trata-se de um estudo prospectivo, inserido em estudo coorte de base populacional, realizado em 33 Unidades Básicas de Saúde e em hospital municipal de Araraquara (SP). Foram acompanhadas desde o início do pré-natal até o pós-parto, 78 gestantes, das quais 46 delas eram obesas ou com sobrepeso e 32, eutróficas. Trimestralmente, realizava-se aplicação de questionário digital sociodemográfico, de estilo de vida e morbidade, exames de ultrassonografia e exames de sangue para determinação de: glicemia de jejum, insulina, colesterol total, LDL, HDL, VLDL, triglicérides e PCR-us, hemoglobina glicada e hemograma completo). A análise da expressão gênica materna foi realizada apenas no terceiro trimestre, utilizando o método de extração por fenolclorofórmio para obter RNA a partir do sangue total, e a expressão gênica relativa foi analisada em triplicata por RT-qPCR no equipamento 7500 Fast Real PCR System (Applied Biosystems®, USA). A adiposidade do neonato foi estimada por pletismografia por deslocamento de ar (PEA POD®), na alta hospitalar. O presente estudo é inédito e mostrou que tanto o fator genético (expressão gênica dos genes *LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *NFκB* e *TNF*) como fatores nutricionais e metabólicos maternos (IMC pré-gestacional, ganho de peso, HOMA-IR e diabetes mellitus gestacional) estão relacionados com a adiposidade do concepto logo após ao nascimento. O desenvolvimento fetal é um processo biológico complexo, regulado tanto por

fatores maternos quanto fetais, incluindo influências genéticas e ambientais. Os mecanismos genéticos influenciam a regulação anti e pró-inflamatória que têm impacto na saúde materna. Expressões de sete dos dez genes investigados mostraram-se estatisticamente associados com a adiposidade do recém-nascido, independente de alguns genes serem mais ou menos expressos em gestantes obesas/sobrepeso. Portanto, o entendimento das diferentes vias do processo inflamatório, imunológico e sinalização da resistência à insulina são intimamente relacionados e dependentes. A elucidação dos fatores envolvidos no início da vida, observados neste estudo, e que podem ser prevenidos no pré-natal, devem ser cruciais para as políticas de saúde pública, na prevenção da obesidade infantil. Descritores: gestação, expressão gênica, programação fetal, DOHaD, obesidade infantil, inflamação.

ABSTRACT

NAKANDAKARE, P.Y. **Gene expression related to obesity and inflammation in pregnant women and newborns.** 2019. Dissertation - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. Portuguese.

Overweight/obesity is a multicausal and polygenic condition that can result in energy imbalance. Once obesity tends to persist, prevention is the more effective strategy and understanding its causes is essential. This study aimed to evaluate the association of the gene expression related to obesity, inflammation and lipid profile in overweight/obese and eutrophic pregnant women and in newborn adiposity. It is a prospective study, inserted in a cohort study with population-based data, which was carried out at 33 Health Units and at a municipal maternity in Araraquara, Sao Paulo, Brazil. Seventy-eight pregnant women were followed since conception until postpartum, of whom 46 were obese or overweight and 32 were eutrophic. Every trimester, a sociodemographic, lifestyle and morbidity questionnaire was applied, ultrasonography and blood tests (fasting glucose, insulin, total cholesterol, LDL, HDL, VLDL, triglycerides and hs-CRP, glycated hemoglobin and complete blood count). The analysis of maternal gene expression was performed only in the third trimester, using the phenolchloroform extraction method to obtain RNA from whole blood, and relative gene expression was analyzed in triplicate by RT-qPCR in the 7500 Fast Real PCR System (Applied Biosystems®, USA). Newborn adiposity was estimated by air displacement plethysmography (PEA POD®) at hospital discharge. As far as we know this is the first study that verified that both genetic factors (*LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *NFkB* and *TNF* gene expressions) and maternal nutritional and metabolic factors (pre-gestational BMI, gestational weight gain, HOMA-IR and gestational diabetes) are related to newborn adiposity at birth. Genetic mechanisms that participate in pro and anti-inflammatory regulation impact on maternal health, that may consequently play a role in the complex biological process of fetal

development, that depends not only from maternal and fetal factors, but also of genetic and environmental influences. Expression of seven from ten genes investigated were statistically associated with newborn adiposity, regardless that some genes were more and other less expressed in obese/overweight pregnant women. Understanding immune and inflammatory pathways and insulin resistance signaling is crucial because its close association to maternal and newborn obesity, as observed in this study. The elucidation of factors involved in early life, as shown, should guide prenatal care in public health policies to prevent childhood obesity.

Keywords: pregnancy, gene expression, fetal development, DOHaD, childhood obesity,, inflammation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1. EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE	8
1.2. ETIOLOGIA DA OBESIDADE	9
1.2.1. Fatores ambientais	9
1.2.2. Mecanismos moleculares relacionados à inflamação na obesidade	10
1.2.3. Origem desenvolvimentista da saúde e da doença (DOHaD)	14
2. JUSTIFICATIVA	17
3. OBJETIVO	18
3.1. OBJETIVO GERAL	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO	19
4.2. LOCAL E POPULAÇÃO	19
4.3. AMOSTRA	19
4.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	20
4.5. COLETA DE DADOS	21
4.5.1. Dados socioeconômicos, demográficos, estilo de vida e de saúde	21
4.5.2. Avaliação antropométrica e de composição corporal	22
4.5.3. Coleta de sangue	22
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
5. RESULTADOS	27
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO	43
8. REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

1.1. EPIDEMIOLOGIA DA OBESIDADE

A obesidade é uma condição multifatorial e poligênica e representa grave problema de saúde pública, que afeta tanto os países desenvolvidos, quanto os países em desenvolvimento. Os mais desenvolvidos parecem ter chegado a um platô, no qual a velocidade de crescimento da obesidade desacelerou, porém, a prevalência de formas mais graves da doença tem aumentado (QASIM *et al.*, 2018).

Muitos países em desenvolvimento, como o Brasil, encontram-se em um período de transição epidemiológica, no qual predominam as doenças crônico-degenerativas. Enquanto mudanças demográficas e nutricionais apontam para uma tendência em que a desnutrição vem sendo reduzida a índices cada vez menores, a obesidade vem atingindo proporções epidêmicas (SBP, 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a obesidade infantil como um dos maiores desafios da saúde pública neste século. Em 40 anos, o número de crianças e adolescentes obesos aumentou mais que 10 vezes e estima-se que eram 216 milhões com sobrepeso, em 2016 (WHO, 2018).

Na América do Sul, 7,4% das crianças menores de 5 anos estão com sobrepeso, superando a taxa mundial de 6% e aproximando-se da América do Norte (7,8%), conhecida pelo avanço acelerado de sobrepeso/obesidade em sua população (WHO, 2017).

Segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), realizada entre 2008 e 2009, uma em cada três crianças brasileiras com idade entre 5 e 9 anos estão acima do peso. E entre os jovens de 10 a 19 anos, um em cada cinco apresenta excesso de peso. Assim, 20% da população infantil é acometida por sobrepeso/obesidade (IBGE, 2010).

O sobrepeso/obesidade infantil é associado a riscos tanto de curto quanto

de longo prazo. As consequências imediatas são, principalmente, menor qualidade de vida e comprometimento psicossociais. Em longo prazo, parece haver maior risco de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), morte prematura, elevado risco cardiovascular e, predominantemente, maior risco de obesidade na vida adulta (BUTLER *et al*, 2019).

Existem vários fatores que foram consistentemente associados à obesidade infantil, como: IMC materno, excesso de ganho de peso gestacional, tabagismo durante a gestação, diabetes gestacional e baixa renda (BUTLER *et al*, 2019). Outras possíveis associações foram observadas entre obesidade infantil e parto cesárea, peso elevado ao nascimento, ganho de peso acelerado, sono prejudicado, uso de antibióticos, concentração sérica de vitamina D materna insuficiente, relação mãe-bebê prejudicada e inclusão em creches (BUTLER *et al*, 2018).

1.2. ETIOLOGIA DA OBESIDADE

A obesidade é uma condição crônica de etiologia multifatorial, na qual a interação de elementos ambientais e comportamentais, heranças genética e aspectos epigenéticos podem resultar em desequilíbrio calórico. O saldo energético positivo, não intencional, aumenta o peso e está associado ao acúmulo excessivo de tecido adiposo (KADOUH e ACOSTA, 2017).

O aumento de peso está fortemente relacionado à morbimortalidade em adultos e os efeitos da obesidade são resultado de diversas complicações associadas. Devido seu expressivo impacto na saúde, é considerada fator de risco para doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como hipertensão arterial, dislipidemias, síndrome metabólica, osteoartrite, DM2, depressão, alguns tipos de câncer e processos inflamatórios (LAVIE *et al.*, 2018).

1.2.1. Fatores ambientais

A vida moderna, urbana, sedentária, com acesso fácil a alimentos de rica densidade calórica tem caracterizado o contexto obesogênico que influencia diretamente a saúde dos indivíduos e interage com o genoma humano (DHURANDHAR e KEITH, 2014; ARCHER, 2015).

Considerando o desenvolvimento humano, o ambiente intrauterino é o local que merece atenção para estudos de redução de risco de obesidade em fase bastante precoce. A influência de fatores maternos como idade, qualidade do sono, tabagismo, exposição a disruptores endógenos e alimentação, bem como aspectos genéticos e epigenéticos têm grande impacto na obesidade.

O IMC materno aumentado está positivamente associado à elevada glicemia, que pode ter repercussões no conceito, como, por exemplo, maior peso ao nascer, alterações no controle do apetite, no funcionamento neuroendócrino e do metabolismo energético. Períodos críticos ou sensíveis no ambiente intrauterino podem ter consequências irreversíveis, programando, à longo prazo, o aumento do peso corporal e doenças crônicas (DARAKI *et al.*, 2015).

1.2.2. Mecanismos moleculares relacionados à inflamação na obesidade

Inflamação é o componente central da imunidade inata e a destruição de microorganismos é a principal função da resposta inflamatória, observada quando células efetoras entram em contato e destroem patógenos presentes nos tecidos. Componentes microbianos como estruturas de lipopolissacarídeos encontradas na parede celular de bactérias gram-negativas, podem desencadear resposta inflamatória a partir da interação com receptores de superfície, como no caso de macrófagos e neutrófilos (CALDER *et al.*, 2013).

O processo inflamatório pode ser classificado em agudo ou crônico. Sendo o primeiro tipo, aquele que apresenta relação com mudanças no calibre vascular, resultante do aumento do fluxo sanguíneo na região inflamada; relacionado com

alterações na microcirculação, favorecida pela saída de proteínas plasmáticas e leucócitos do sangue para os tecidos (MOFINO *et al*, 2017). Assim que a infecção é eliminada ou controlada, mecanismos de ativação previnem maiores danos ao hospedeiro, iniciam o reparo dos tecidos e reduzem, gradativamente, a resposta inflamatória até a sua completa resolução, a qual é um processo ativo, que envolve mecanismos de *feedback* negativo, como a secreção de citocinas anti-inflamatórias, redução da expressão de receptores, ativação de células regulatórias e produção de mediadores lipídicos (MOFINO *et al*, 2017).

A inflamação crônica, sistêmica e de baixa intensidade está fortemente associada à maior adiposidade, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, decorrente da relação entre inflamação, resistência à ação da insulina e hiperglicemia (CALDER, 2011; PRENTICE, 2019). Nesse contexto, macrófagos presentes no tecido adiposo parecem ser o tipo de célula responsável pela secreção de TNF-alfa e IL-6, pois a elevada concentração de citocinas é resultado da infiltração de macrófagos do tipo M1, que são ativados e aumentam a expressão de citocinas pró-inflamatórias como TNF-alfa, IL-1 beta e IL-6 (GARFINKEL e HOTAMISLIGIL, 2017).

No tecido adiposo branco, a expressão da MCP-1 (proteína quimioatrativa de monócitos) se correlaciona positivamente com a adiposidade, sendo que esta relação é ainda mais forte entre gordura visceral e MCP-1 em relação à gordura subcutânea. O receptor para MCP-1, chamado receptor CCR2 (receptor tipo 2 para quimiocina CC), é expresso em monócitos presentes no sangue periférico e em macrófagos do tecido adiposo. Isto mostra que a obesidade favorece o processo de migração dos monócitos para o tecido adiposo visceral de pacientes obesos e que, estas células do sistema imune, ao chegarem neste novo tecido, se diferenciam em macrófagos (GARFINKEL e HOTAMISLIGIL, 2017).

Existem dois tipos de tecido adiposo: o tecido adiposo branco (TAB) e o tecido adiposo marrom (TAM). O TAM é participante da termogênese e da regulação da temperatura corporal e é encontrado em fetos e neonatos. Adultos apresentam uma pequena concentração de TAM nas regiões cervical supra-clavicular, supra-

adrenal e para-espinhal (LOWELL *et al*, 1993).

Adipócitos do TAM e do TAB parecem ter diferentes fisiologias e funções opostas, porém sugere-se que seja possível o processo de “beiging/browning” do TAB. A adaptação metabólica do TAB promoveria o aumento do gasto energético, acarretando em melhor controle do ganho de peso e aumento na eficiência do TAM e da termogênese. Assim, indivíduos com menores depósitos de TAM poderiam estar mais susceptíveis a desenvolver obesidade (LOWELL *et al*, 1993).

A obesidade é fator de risco para o desenvolvimento da resistência à ação da insulina e, desse modo, obesos apresentam ação da insulina diminuída no músculo esquelético devido à redução da fosforilação de resíduos de tirosina no substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1) e menor atividade da quinase PI3K (SAMUEL e SHULMAN, 2012; HEISTON e MALIN, 2019).

Além da obesidade, a resposta inflamatória aumentada é também um fator desencadeante de resistência à insulina, pois ativa proteínas quinases que participam das vias de sinalização do receptor do tipo “Toll” e de receptores de TNF-alfa (LOPES *et al*, 2019). Aliado a esse fato, a IL-6 favorece a ocorrência de resistência à insulina por meio da indução da proteína 3 supressora da sinalização de citocina (SOCS3) (TILG e MOSCHEN, 2008).

O consumo excessivo de nutrientes em indivíduos obesos é detectado pelo sistema imune inato, ativando vias pró-inflamatórias e respostas de estresse em várias partes do corpo. Este estado de inflamação crônica e de baixo grau, meta-inflamação, é resultado de estilo de vida sedentário e baixa qualidade alimentar. Do ponto de vista molecular, a meta-inflamação decorre da indução de proteínas do tipo IKK-beta e JNK-1, que ativam os fatores de transcrição designados fator nuclear kappa B (NFkB) e a proteína ativadora 1 (AP-1), respectivamente (ERTUNC e HOTAMISLIGIL, 2016). O gene *TLR4*, que é expresso em diversas células incluindo monócitos e macrófagos, adipócitos, enterócitos, células dendríticas e musculares, tem a função de controlar as respostas inflamatórias e imunológicas. Destaca-se sua participação na ativação do NFkB.

O fator de transcrição NFkB é ativado quando há ligação de

lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas ou ácidos graxos saturados ao receptor TLR-4. Isto desencadeia uma cascata de reações de sinalização intracelular que permite a dissociação do complexo que inibe o NFkB. Assim, o NFkB pode translocar para o núcleo e se ligar à região promotora de genes com funções pró-inflamatórias. O aumento da expressão destes genes acarreta a síntese de proteínas pró-inflamatórias (IL-1beta, IL-6 e TNF-alpha) (HOTAMISLIGIL, 2017; ROGERO e CALDER, 2018).

A resposta inflamatória sistêmica origina-se principalmente do tecido adiposo, sendo que o excesso dele aumenta a produção de marcadores inflamatórios como TNF-alfa e também promove a infiltração de células imunes como monócitos e macrófagos que contribuem assegurando a continuidade deste ciclo. Macrófagos sintetizam citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, TNF-alfa que, no fígado, podem favorecer o aumento de proteínas de fase aguda e aumentar a expressão de proteína C reativa (HOTAMISLIGIL, 2006; HOTAMISLIGIL, 2017) .

A hipertrofia do tecido adiposo aumenta a produção de TNF-alfa e diminui a síntese de adiponectina, que acarreta menor ação da insulina e a possível associação entre obesidade, inflamação e diabetes tipo 2. Enquanto que na gestação, a resistência à insulina é naturalmente maior, em especial, no terceiro trimestre. Portanto, a obesidade materna aumentaria ainda mais a resistência à ação da insulina (TILG e MOSCHEN, 2008; ROGERO e CALDER, 2018).

A gestação é uma situação específica com ganho de peso fisiológico e mudanças metabólicas e imunológicas que permitem o crescimento e desenvolvimento do feto sem alterações inflamatórias exageradas. A IL-10 é uma das principais citocinas anti-inflamatórias que mantêm a gestação equilibrando o ambiente inflamatório (MOR, 2011 e CHENG, 2015).

A infiltração de macrófagos associada à obesidade aumenta a secreção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 beta, IL-6 e MCP-1, porém também apresentam maior produção de IL-10. A IL-10 é produzida por várias células imunes como monócitos, macrófagos e células T e mantém a tolerância imune. A

hipótese de POLARI *et al* (2018) sugeria que o contexto anti-inflamatório natural da gestação era resultado da maior circulação de IL-10 que reduziria a inflamação sistêmica, limitando síntese de MCP-1. No entanto, foi observado que as gestantes obesas não tinham a produção de MCP-1 reduzida e, ainda assim, sugere-se que gestantes obesas apresentam maior risco para complicações obstétricas e desequilíbrio metabólico no final da gestação.

1.2.3. Origem desenvolvimentista da saúde e da doença (DOHaD)

Atualmente, reconhece-se que muitas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) do adulto têm origem na infância e até mesmo em fase intrauterina. Essa teoria foi postulada pelo Professor Barker, epidemiologista, que relacionou carências nutricionais maternas durante o desenvolvimento fetal a doenças crônicas posteriores do conceito, sugerindo que órgãos, estruturas e suas funções estavam submetidas à programação durante o período pré-natal, determinando pontos críticos em respostas metabólicas e fisiológicas que se manifestariam predominantemente na vida adulta (BARKER e OSMOND, 1986).

A “Teoria de Barker”, também conhecida como “hipótese da origem fetal” ou “programação fetal”, nestes 30 anos de pesquisa, ganhou consistência e foi renomeada “Origem Desenvolvimentista da Saúde e da Doença” (*Developmental Origins of Health and Disease - DOHaD*) (HOFFMAN *et al.*, 2017).

Pesquisas subsequentes corroboraram com essa hipótese, mostrando que alterações nutricionais e endócrinas na fase fetal poderiam resultar em adaptações no desenvolvimento, desencadeando respostas fisiológicas e metabólicas e alterações epigenéticas (LAU *et al.*, 2011; WOO, 2019), que atualmente estão sendo bastante investigadas. Além disso, estilo de vida durante a gestação também tem papel importante, com efeitos profundos e duradouros na

saúde do conceito em longo prazo e no risco para doenças na vida adulta, como por exemplo, a obesidade (FLEMING *et al.*, 2018).

A hiperplasia e/ou hipertrofia de células adiposas na vida intrauterina pode levar ao crescimento excessivo do tecido adiposo e chegar a níveis de sobrepeso e obesidade, que tendem a persistir desde a infância até a vida adulta (MOSTYN e SYMONDS, 2009). Uma *proxy* do crescimento intrauterino é o peso ao nascer, sendo que a relação entre peso ao nascer e obesidade durante a vida apresenta distribuição em forma de “U” (NEWBY *et al.*, 2005; EKELUND *et al.*, 2006; DOLAN *et al.*, 2007). Porém, devido ao aumento contínuo da média de peso ao nascer, em diversos países, estima-se que maior peso ao nascer tenha uma relação mais importante com fatores de risco para obesidade do que o baixo peso (ZHAO *et al.*, 2012).

Assim, desde a infância, indivíduos poderiam estar programados para maiores riscos de desenvolver DCNT durante a vida adulta, particularmente comorbidades cardiovasculares e metabólicas como hipertensão, obesidade, DM2, condições atópicas, alguns tipos de cânceres e prejuízos neurológicos (FLEMING *et al.*, 2018).

Estudo realizado por PEREIRA-FREIRE *et al.* (2015) encontrou associação positiva entre peso ao nascer e circunferência abdominal em crianças de 5-8 anos de idade. A circunferência abdominal é um importante indicador de reserva de gordura visceral, e é utilizado para identificar crianças com risco de desenvolver problemas cardiovasculares e metabólicos (BOCCA, 2013). Entretanto, uma das limitações de seu uso é a ausência de um valor de referência internacionalmente aceito para crianças e adolescentes.

BASTIEN *et al.* (2014), realizaram avaliação da adiposidade corporal utilizando medidas da dobra cutânea tricipital e bioimpedância, mostrando que uma porcentagem considerável de excesso de gordura pode ser fator de risco para instalação de obesidade infantil e desenvolvimento de doenças crônicas.

SAYER *et al.* (2004) e SIGHALI *et al.* (2003) utilizaram densitometria óssea de dupla absorção de raio X (DEXA) e encontraram associação positiva entre

peso ao nascer e massa livre de gordura em adultos e adolescentes ingleses.

É importante lembrar que a composição corporal no nascimento pode variar mesmo quando bebês têm o peso ao nascer de igual valor e mesmo quando se classificam como adequados para idade gestacional. YAJNIK *et al* (2003), observou que bebês indianos têm maior adiposidade, apesar de serem menores e mais magros que bebês britânicos. Outros estudos confirmam que há diferenças entre os gêneros quanto à programação da composição corporal. Portanto, o gênero e a adiposidade devem ser considerados nos estudos que avaliam desfechos metabólicos e cardiovasculares. AYYAVOO *et al* (2014) também observou mais gordura corporal, menos massa livre de gordura e maior adiposidade abdominal em meninas do que em meninos.

Com base em resultados controversos, a respeito da associação entre peso ao nascer e composição corporal, em diferentes regiões do mundo, (BUKSH *et al*, 2019; KATZOW *et al*, 2019) é importante o seguimento de estudos coorte prospectivos para avaliação da composição corporal no nascimento e também ao longo da vida, não somente utilizando o peso ao nascer como *proxy* do crescimento intrauterino, mas também avaliando a adiposidade do neonato.

2. JUSTIFICATIVA

Estudos que investigam alterações já no início da vida são de particular interesse para avaliar desfechos multifatoriais, pois permitem melhor controle de exposição a comorbidades e minimizam efeito de viés.

A obesidade materna relaciona-se com maior adiposidade no concepto em decorrência de fatores intrauterinos. Por isso, o esclarecimento dos mecanismos envolvidos no período gestacional e do parto ajudaria a explicar a pandemia de obesidade e o acelerado aumento da transmissão desta doença entre as gerações.

Pesquisas coorte prospectivas de nascimento, que verifiquem interação entre genética e adiposidade, avaliando a composição corporal de neonatos, são escassas. Portanto, o presente estudo, visa contribuir para elucidação dos fatores relacionados à obesidade, considerando avaliação da composição corporal no binômio gestante-concepto e expressão gênica no sangue materno.

3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação da expressão de genes relacionados à obesidade, inflamação e perfil lipídico em gestantes com sobrepeso/obesidade e eutróficas, na adiposidade dos recém-nascidos.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as características demográficas, socioeconômicas, estilo de vida, morbidade e composição corporal de gestantes com sobrepeso/obesidade e eutróficas no terceiro trimestre;
- Analisar o perfil bioquímico de gestantes com sobrepeso/obesidade e eutróficas, no terceiro trimestre;
- Avaliar a expressão de genes relacionados à obesidade, inflamação e metabolismo de lipídeos em gestantes com sobrepeso/obesidade e eutróficas, no terceiro trimestre;
- Relacionar a expressão gênica das vias mencionadas com características demográficas, socioeconômicas, estado nutricional, perfil bioquímico e presença de comorbidades associadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo prospectivo, inserido em estudo epidemiológico tipo coorte intitulado “Relação entre adiposidade materna e adiposidade do concepto nos períodos fetal, neonatal e no primeiro ano de vida: estudo prospectivo de base populacional”, realizado em 33 Unidades Básicas de Saúde (UBS), no Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA), em sete municípios da região, e na Maternidade Pública “Gota de Leite” do município de Araraquara, São Paulo, Brasil.

4.2. LOCAL E POPULAÇÃO

O município de Araraquara está situado na região central do Estado de São Paulo, a 270 km da capital, com população estimada de 226 mil habitantes (IBGE, 2016).

A escolha do município deu-se por conveniência, levando-se em consideração a viabilidade e logística do estudo:

1) Por ser uma cidade de médio porte e distante da capital, com menores índices de migração, permitiu maior tempo de seguimento das gestantes na coorte, e minimizou perdas;

2) A pesquisa teve apoio da Secretaria Municipal de Saúde de Araraquara e do SESA da Faculdade de Saúde Pública, USP, que permitiram acesso dos pesquisadores às gestantes das UBS de Araraquara e região, e forneceram local para acompanhamento das gestantes e instalação dos equipamentos do projeto.

4.3. AMOSTRA

Para o presente estudo, foi selecionado inicialmente um sub-grupo de 100 gestantes e seus respectivos neonatos, pertencentes ao estudo maior,

considerando-se como critério, o IMC pré-gestacional, sendo 46 gestantes obesas ou com sobrepeso (IMC pré-gestacional ≥ 25 kg/m²) e 32 gestantes eutróficas ($18,5 < \text{IMC pré-gestacional} < 25$ kg/m²) (OMS, 2000). As gestantes foram captadas durante o período de 2017 a 2018, tendo sido excluídas aquelas que:

- Não compareceram à primeira consulta (n=7);
- Abortaram (n=3);
- Desistiram do acompanhamento (n=12);

Entre as 78 gestantes acompanhadas até o parto, constaram intercorrências que decorreram em perda amostral:

- Óbito neonatal (n=1);
- Neonatos gemelares (n=1);
- Perda de amostra por erro no equipamento de expressão gênica (n=2);
- Amostras insuficientes para protocolo de expressão gênica (n=16)
- Recém-nascido não fez exame de composição corporal (n=7).

Chegaram ao final do estudo 78 gestantes, das quais 46 apresentavam sobrepeso ou obesidade e, 32 eram eutróficas. Dados de expressão gênica são apresentados para 51 binômios mãe-conceito, das quais 25 apresentavam sobrepeso ou obesidade e, 26 eram eutróficas.

4.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram consideradas como elegíveis para o estudo todas as gestantes com:

- Idade gestacional menor ou igual a 15 semanas na primeira entrevista (conferido no Cartão da gestante por meio de dados de ultrassom ou Data da Última Menstruação - DUM);
- Concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- Intenção de realizar o parto na Maternidade “Gota de Leite”;
- IMC pré-gestacional $\geq 18,5$ kg/m²;
- Presença em todos os exames de acompanhamento;
- IG ≥ 30 semanas entre novembro/2017 e fevereiro/2018;

- Parto entre novembro/2017 e maio/2018.

Foram excluídas ao longo do estudo, aquelas que abortaram, faltaram mais de três vezes sem justificativa ou desistiram do programa.

4.5. COLETA DE DADOS

Todas as mulheres que iniciaram o acompanhamento de pré-natal no SUS de Araraquara e região, e que estavam com idade gestacional ≤ 15 semanas eram convidadas a participar do estudo. Entrevistadores treinados pela equipe de pesquisa abordavam as gestantes na própria UBS, explicavam sobre a importância da participação e realizavam o cadastro digital para coleta de documentação necessária. O fluxo de acompanhamento também era exposto neste momento, pois, a partir da inclusão da gestante, ela era encaminhada para os serviços de apoio. As aferições antropométricas e de composição corporal das gestantes e recém-nascidos eram realizadas no SESA e os exames bioquímicos maternos em laboratório de análises clínicas. Dados sobre as condições ao nascimento - Apgar score, sexo e tipo de parto eram obtidos do prontuário das gestantes na Maternidade “Gota de Leite”, por pesquisadores do projeto.

No estudo maior, os dados maternos foram obtidos nas seguintes idades gestacionais: ≤ 15 semanas (primeiro trimestre), 20 a 26 semanas (segundo trimestre) e 30 a 36 semanas (terceiro trimestre), e para o recém-nascido entre 12 e 72 horas após o parto. Para o estudo em questão, não foram utilizados dados referentes ao segundo trimestre gestacional. Após recrutamento das participantes na pesquisa, as idades gestacionais das mesmas eram estimadas por meio de ultrassonografia.

4.5.1. Dados socioeconômicos, demográficos, estilo de vida e de saúde

Os dados socioeconômicos e demográficos foram coletados durante o primeiro trimestre; os referentes a estilo de vida, fatores obstétricos e de

morbidade entre 30 a 36 semanas. Os entrevistadores aplicavam questionários para investigação de tais variáveis, e as gestantes respondiam às perguntas na UBS durante a espera para consulta com obstetra ou em horário previamente agendado, de acordo com a demanda e preferência da participante. Na ocasião, também eram agendados os exames da gestante.

4.5.2. Avaliação antropométrica e de composição corporal

Para este sub-projeto, a avaliação antropométrica das gestantes foi realizada durante o primeiro e terceiro trimestres, e a composição corporal apenas no terceiro trimestre. Medidas de altura e circunferência do braço eram aferidas em duplicata. A estatura foi medida utilizando-se estadiômetro (modelo 206, Seca[®], Alemanha), circunferência do braço com fita inextensível (modelo 201, Seca[®], Alemanha), e o peso e a composição corporal segmentar, em equipamento de bioimpedância (modelo MC-180 MA, Tanita[®], Japão).

Após o parto, era realizada antropometria e estimativa da composição corporal do recém-nascido, por meio de pletismografia por deslocamento de ar (PEA POD, Cosmed[®], USA). O comprimento era determinado em infantômetro (modelo 416, Seca[®], Alemanha) e as circunferências craniana, abdominal e torácica por fita inextensível (modelo 201, Seca[®], Alemanha).

4.5.3. Coleta de sangue

As amostras sanguíneas maternas (25mL) foram coletadas no terceiro trimestre de gestação, por meio de punção venosa, com oito horas de jejum, em laboratório particular de análises clínicas de Araraquara. O sangue foi coletado em tubos tipo *vacutainer*, contendo ácido etileno-diaminotetraacético (EDTA) utilizado como anticoagulante e antioxidante, fluoreto/EDTA utilizado como inibidor glicolítico, ambos para obtenção do plasma e em tubos secos para obtenção do soro. A fração sanguínea plasmática foi utilizada para determinação de glicemia de jejum e o soro para determinação de colesterol total, LDL, HDL, VLDL,

triglicérides e PCR-us. No sangue total realizou-se a análise de hemoglobina glicada e hemograma completo.

Para avaliação de expressão gênica foram separados 8ml de sangue materno em tubos com EDTA, mantidos em geladeira e transportados de Araraquara para Ribeirão Preto, com devidos cuidados de refrigeração e transporte.

4.5.3.1. Avaliação da expressão gênica

O RNA foi extraído a partir do sangue total, utilizando 1,0 ml de Trizol (Invitrogen, Carlsbad, EUA) pelo método de extração por fenolclorofórmio (CHOMCZYNSKI e SACCHI, 1987). E a quantificação do RNA foi realizada por meio do espectrofotômetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific) nos comprimentos de onda de 260/280 e 230nm, para avaliação do grau de pureza de cada amostra. As amostras de RNA foram armazenadas em freezer -80 °C, garantindo estabilidade e preservação do RNA, dessa forma evitando a degradação do material a cada descongelamento.

As amostras congeladas (-80°C) em Trizol foram descongeladas em gelo. Foi adicionado à amostra, 250 µl de clorofórmio e 10 µl de glicogênio (20ng/ul). Após essa etapa, ocorreu a separação da solução em fase aquosa e orgânica, sendo que o RNA permaneceu na fase aquosa. Transferiu-se o sobrenadante (fase aquosa) para um novo tubo, adicionou-se 250 µl de clorofórmio, agitou-se o tubo manualmente por 15 segundos e incubou-se no gelo por mais 5 minutos. Então, centrifugou-se à 12.000 g por 15 minutos à 4° C. Repetiu-se o procedimento de transferir o sobrenadante para um novo tubo e adicionou-se a mesma quantidade de isopropanol 100 % (gelado). Agitou-se manualmente por inversão e centrifugou-se novamente à 12.000 g por 15 minutos à 4° C. Posteriormente descartou-se cuidadosamente o sobrenadante de isopropanol e a amostra foi lavada por duas vezes com 1000 µl de etanol 70 %. Para finalizar, descartou-se cuidadosamente o sobrenadante e o pellet foi eluído em água 20 µl

de água RNase free. Posteriormente a amostra foi armazenada à -80° C.

O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado utilizando kit comercial High-CapacitycDNA Reverse Transcription[®] (Life Technologies), conforme instruções da empresa.

A análise de expressão gênica foi realizada em triplicata por RT-qPCR utilizando o instrumento 7500 Fast Real PCR System (Applied Biosystems[®], USA). Para quantificar a expressão relativa dos genes foram utilizadas sondas de hidrólise TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas específicas (Applied Biosystems[®], USA), conforme instruções do fabricante (Quadro 1).

Quadro 1 – Sondas de hidrólise para genes alvo.

Gene	Sonda
FTO	Hs01057139_g1
MC4R	Hs00271877_s1
LEPR	Hs00174497_m1
STAT3	Hs00374280_m1
PPARG	Hs01115513_m1
TLR4	Hs00152939_m1
IL-6	Hs00174131_m1
IL-10	Hs00961622_m1
NFkB	Hs00765730_m1
TNF	Hs00174128_m1

A quantificação relativa utilizando como calibrador o grupo de gestantes eutróficas e recém-nascidos de mães eutróficas considerou os cálculos de diferença de expressão baseado na metodologia de $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Dois genes de referência, GAPDH e β -actina, foram analisados paralelamente, com o objetivo de normalizar a expressão dos mRNAs dos genes pesquisados relativos a possíveis diferenças na quantidade e qualidade de RNA.

Esses mesmos genes foram considerados para a verificação de eficiência da reação de transcrição reversa entre as amostras (Quadro 2).

Quadro 2 – Sondas de hidrólise para genes alvo.

Gene	Sonda
GAPDH	Hs02786624_g1
β -actina	Hs01060665_g1

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após comprovada a normalidade da distribuição dos dados pelo teste de *Shapiro-Wilk*, foi utilizado o teste t de Student para amostras pareadas para comparações entre gestantes com sobrepeso/obesidade e eutróficas. A estatística descritiva foi composta por valores de média e desvio-padrão (DP). O teste de chi-quadrado foi utilizado para comparar as variáveis categóricas nos dois grupos de gestantes investigadas. E para expressão gênica relativa foi aplicado teste não-paramétrico de Wilcoxon. Considerou-se como hipótese nula a não existência de relação entre os grupos do estudo.

Em seguida, foi realizada análise de regressão linear múltipla utilizando-se o método de *backward selection* para determinar a associação entre a porcentagem de massa gorda do neonato com as expressões dos 10 genes investigados, considerando-se nos modelos as seguintes variáveis: IMC pré-gestacional, ganho de peso, diabetes gestacional, HOMA-IR, idade da mãe, renda *per capita*, síndrome hipertensiva da gestação, sexo, idade gestacional. Nos modelos finais as gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas foram consideradas juntas, devido a pequena amostragem para modelagem, mantendo-se as variáveis de confusão mais importantes do estudo: IMC pré-gestacional, ganho de peso, diabetes mellitus gestacional e HOMA-IR.

A significância estatística (p-valor) foi estabelecida em $p < 0,05$, sendo as análises realizadas no software Stata (v.14.0) e Microsoft Excel (v.2010).

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

O Estudo foi realizado conforme a legislação de ética em pesquisa para seres humanos (Resolução 466/2012, CNS 2012). O projeto maior, no qual está inserido este estudo, foi apresentado à Secretaria Municipal de Saúde de Araraquara da qual obtive Carta de Anuência para realização do trabalho e foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde pública da USP, com o parecer nº 1.885.874. As gestantes participantes do estudo assinaram os termos de cientes e concordantes com a realização da pesquisa. O original dos termos ficava com os pesquisadores e uma cópia deste era disponibilizada às entrevistadas, para ficar em seu poder.

5. RESULTADOS

No período de 2017 a 2018, foram avaliadas 78 gestantes, das quais 46 apresentavam sobrepeso ou obesidade e, 32 eram eutróficas. E a expressão gênica foi analisada em 51 gestantes no terceiro trimestre, das quais 25 apresentavam sobrepeso ou obesidade e, 26 eram eutróficas.

Na Tabela 1, estão apresentadas as características demográficas, socioeconômicas, de estilo de vida e morbidade das gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas.

A média de idade foi semelhante para os dois grupos e a maior concentração se deu entre gestantes adultas jovens, de 20 a 35 anos. Porém, verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos divididos por faixas etárias, sendo que as adolescentes eram todas eutróficas e as gestantes com idade igual ou superior a 36 anos eram todas obesas/sobrepeso.

Em ambos os grupos, a maioria das gestantes era branca e solteira com companheiro, predominância de gestantes na classe econômica C1, tanto para de obesas/sobrepeso (41,3%), quanto para eutróficas (34,38%). Em relação à moradia, metade das gestantes obesas/sobrepeso é residente de casa própria (26,09% quitada e 23,91 não quitada), com 3,63 (DP=1,36) moradores por domicílio e 1,36 (DP=0,05) moradores por cômodo, enquanto que mais da metade das gestantes eutróficas também reside em casas próprias (21,88% quitada e 31,25% não quitada), com 3,44 (DP=1,13) moradores por domicílio e 0,71 (DP=0,05) moradores por cômodo, sendo que não houve diferença estatisticamente significativa para qualquer um destes parâmetros avaliados.

Quanto à escolaridade, as 71,73% das obesas/sobrepeso chegaram ao Ensino Médio, com 10,15 (DP=2,30) anos de estudo e, 71,88% das eutróficas alcançaram também o Ensino médio com 11,34 (CP=3,5) anos de estudo.

No terceiro trimestre gestacional, 76,09% das obesas/sobrepeso não estavam trabalhando, apenas 10,87% eram tabagistas e 13,04% consumiram bebida alcoólica neste período. Entre as eutróficas, 56,25% não estavam

trabalhando, apenas 3,13% eram tabagistas e 15,63% consumiram bebida alcoólica, embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significantes.

Em relação à saúde da gestante no terceiro trimestre gestacional, 89,13% das obesas/sobrepeso não apresentavam hipertensão arterial e diabetes e entre as eutróficas, 96,88%. Observou-se que 13,04% das obesas/sobrepeso apresentavam hipotireoidismo, 8,70% também tiveram algum episódio de infecção urinária e 4,35% de cervicite ou vaginite. Enquanto que apenas 3,13% das eutróficas tinham diagnóstico de hipotireoidismo, 12,50% apresentaram infecção urinária e nenhuma delas teve cervicite ou vaginite.

Tabela 1 - Características demográficas, socioeconômicas, estilo de vida e morbidade.

Variáveis*	Estado nutricional de gestantes				p
	Obesas e sobrepeso (n=46)		Eutróficas (n=32)		
	N (%)	Média (DP)	N (%)	Média (DP)	
Idade (anos)		28,55 (6,89)		25,92 (5,97)	0,085 ¹
16-19	0		10 (31,25)		<0,001 ²
20-35	37 (80,43)		22 (68,75)		
≥ 36	9 (19,57)		0		
Cor / raça					
Branca	22 (47,83)		18 (56,25)		0,267 ²
Preta	7 (15,22)		2 (6,25)		
Amarela	3 (6,52)		0		
Parda	5 (30,43)		12 (37,50)		

Situação conjugal			
Casada	11 (23,91)	6 (18,75)	0,949 ²
Solteira (com companheiro)	31 (67,39)	23 (71,88)	
Solteira (sem companheiro)	3 (6,52)	2 (6,25)	
Separada/viúva	1 (2,17)	1 (3,13)	
(continuação)			
Renda per capita (R\$)	728,88 (74,39)	864,66	0,274 ¹
Classificação			0,155 ²
Classe B1	0	2 (6,25)	
Classe B2	6 (13,04)	8 (25,00)	
Classe C1	19 (41,30)	11 (34,38)	
Classe C2	16 (34,78)	6 (18,75)	
Classe D-E	5 (10,87)	5 (15,63)	
Situação da moradia			0,831 ²
Alugada	20 (43,48)	12 (37,50)	
Própria quitada	12 (26,09)	7 (21,88)	
Própria não quitada	11 (23,91)	10 (31,25)	
Emprestada	3 (6,52)	3 (9,38)	
Número de pessoas no domicílio	3,63 (1,36)	3,44 (1,13)	0,511 ¹
Número de pessoas/cômodo	0,77 (0,05)	0,71 (0,05)	0,387 ¹
Grau escolaridade gestante			0,222 ²
Fundamental	9 (19,57)	1 (3,13)	
Médio	33 (71,73)	23 (71,88)	
Superior	4 (8,69)	7 (21,88)	
Pós-graduação	0	1 (3,13)	
Anos de estudo da gestante	10,15 (2,30)	11,34 (3,5)	0,057 ¹

Trabalho no 3ºTrimestre			0,065 ²
Sim	11 (23,91)	14 (43,75)	
Não	35 (76,09)	18 (56,25)	
Tabagismo			0,207 ²
Sim	5 (10,87)	1 (3,13)	
Não	41 (89,13)	31 (96,88)	
Consumo de álcool			0,747 ²
Sim	6 (13,04)	5 (15,63)	
Não	40 (86,96)	27 (84,38)	
Hipertensão arterial			0,207 ²
Sim	5 (10,87)	1 (3,13)	
Não	41 (89,13)	31 (96,88)	
Diabetes			0,2017 ²
Sim	5 (10,87)	1 (3,13)	
Não	41 (89,13)	31 (96,88)	
Infecção urinária			0,586 ²
Sim	4 (8,70)	4 (12,50)	
Não	42 (91,30)	28 (87,50)	
Hipotireoidismo			0,132 ²
Sim	6 (13,04)	1 (3,13)	
Não	40 (86,96)	31 (96,88)	
Cervicite ou vaginite			0,232 ²
Sim	2 (4,35)	0	
Não	44 (95,65)	32 (100)	
Hepatite			0,401 ²
Sim	1 (2,17)	0	
Não	45 (97,83)	32 (100)	

*nenhuma gestante relatou uso de drogas, HIV, malária, rubéola, sífilis, gonorreia, tuberculose, zika, chikungunya ou dengue, no terceiro trimestre da gestação; ¹ - Test T- Student; ² - Qui-quadrado

De acordo com a Tabela 2, que apresenta antropometria e ganho de peso das gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas. Observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sendo o IMC elevado para gestantes obesas/sobrepeso, tanto antes da concepção, quanto no final da gestação. E ainda, o ganho de peso entre gestantes eutróficas foi estatisticamente maior, embora dados de duas gestantes não puderam ser coletados.

Tabela 2 – Antropometria e ganho de peso das gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas no 3^o trimestre.

Variáveis	Estado nutricional de gestantes		p
	Obesas e sobrepeso (n=46)	Eutróficas (n=32)	
	Média (DP)	Média (DP)	
Estatura (cm)	160,45 (7,42)	163,19 (4,76)	0,070 ¹
IMC pré-gestacional	30,37 (4,05)	22,30 (1,80)	<0,001 ¹
IMC no 3^o trimestre	32,97 (4,54)	25,80 (2,77)	<0,001 ¹
Peso pré-gestacional (kg)	78,26 (11,74)	59,47 (6,12)	<0,001 ¹
Ganho de peso (kg)	11,00 (7,75)	15,37 (4,80)	0,012¹

¹ - Test T- Student; ² - Qui-quadrado

Na Tabela 3, estão descritos os resultados dos exames laboratoriais de gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas, no 3^o trimestre gestacional e suas referências.

Foram observadas diferenças estatisticamente significantes para a insulina, HOMA-IR e concentração sérica de triglicérides e proteína C reativa ultrasensível (PCR-us). O HOMA-IR estava alterado em gestantes obesas/sobrepeso (HOMA-IR=16,61; DP=17,26) e eutróficas (HOMA-IR=9,09; DP=4,81). Embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa, também estavam alterados o colesterol total

em obesas/sobrepeso (CT=225,22; DP=42,73) e eutróficas (CT=229,84; DP=47,34), triglicérides em obesas/sobrepeso (TG=214,02; DP=79,49) e eutróficas (TG=179,66; DP=59,01) e PCR-us em obesas/sobrepeso (PCR-us=10,57; DP=9,76) e eutróficas (PCR-us=6,31; DP=8,46).

Tabela 3 – Características bioquímicas das gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas, no 3^o trimestre gestacional.

Variáveis	Estado nutricional de gestantes			
	Obesas e sobrepeso (n=46)	Eutróficas (n=32)	p	Valores de referência
	Média (DP)	Média (DP)		
Hemoglobina (g/dL)	12,23 (1,19)	12,00 (1,10)	0,387 ¹	12 a 16
Hemoglobina (%)	76,48 (7,44)	74,97 (6,94)	0,368 ¹	100
Glicemia de jejum (mg/dL)	80,85 (16,71)	75,56 (7,40)	0,098 ¹	<105
Insulina (µUI/mL)	16,61 (17,26)	9,09 (4,81)	0,019¹	2 a 23
HOMA-IR*	3,44 (3,89)	1,71 (0,91)	0,016¹	<1,65
Hemoglobina glicada (%)	5,31 (0,41)	5,18 (0,41)	0,160 ¹	4,5 a 6,4
Colesterol total (mg/dL)	225,22 (42,73)	229,84 (47,34)	0,654 ¹	<200
HDL (mg/dL)	59,78 (12,02)	61,62 (13,16)	0,525 ¹	40 a 60
LDL (mg/dL)	122,20 (35,72)	132,31 (41,55)	0,256 ¹	<130
VLDL (mg/dL)	41,47 (12,94)	35,91 (11,76)	0,058 ¹	<30
Triglicérides (mg/dL)	214,02 (79,49)	179,66 (59,01)	0,041¹	<150
PCR-us (mg/L)	10,57 (9,76)	6,31 (8,46)	0,049¹	< 3

¹ - Test T- Student

² - Qui-quadrado

* Matthews et al.(1985)

Na Tabela 4, estão apresentadas as características obstétricas das gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas. O grupo de obesas/sobrepeso apresenta maior número de gestações anteriores (1,63), maior média de filhos (1,37) e maior incidência de parto cesárea (50%), comparado com as eutróficas (31,26%).

Tabela 4 – Características obstétricas das gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas

Variáveis	Estado nutricional de gestantes				p
	Obesas e sobrepeso (n=46)		Eutróficas (n=32)		
	n (%)	média (EP)	n (%)	média (EP)	
Nº gestações anteriores		1,63 (1,74)		0,91 (1,12)	0,454 ²
0	12 (26,09)		14 (43,75)		
1	14 (30,43)		11 (34,38)		
2 ou mais	20 (43,48)		7 (21,87)		
Paridade					0,212 ²
0	14 (30,43)		14 (43,75)		
1	14 (30,43)		14 (43,75)		
2	12 (26,09)		3 (9,38)		
3 ou mais	6 (13,05)		1 (3,13)		
Nº filhos		1,37 (1,52)		0,75 (0,91)	0,044¹
Intervalo da última gestação					0,107 ¹
< 1	5 (8,69)		1 (3,13)		
1 - 2	2 (4,34)		2 (6,26)		
2 - 3	3 (6,52)		3 (9,39)		
3 - 4	5 (10,87)		1 (3,13)		
5 - mais	31		25		

Aborto anterior			0,878 ²
Sim	8 (17,39)	6 (18,75)	
Não	38 (82,61)	26 (81,25)	
Baixo peso ao nascer			0,782 ²
Sim	2 (4,35)	1 (3,13)	
Não	44 (95,65)	31 (96,88)	
Pré-termo			0,087 ²
Sim	4 (8,70)	0	
Não	42 (91,30)	32 (100)	
Tipo de parto			0,022²
Vaginal sem indução	11 (23,91)	15 (46,88)	
Vaginal induzido	12 (26,09)	7 (21,88)	
Cesárea	17 (36,96)	3 (9,38)	
Indução seguida de cesárea	6 (13,04)	7 (21,88)	

¹ - Test T- Student

² - Qui-quadrado

Na Tabela 5, estão apresentadas a antropometria e a composição corporal dos recém-nascidos de gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas.

Não houve diferença estatisticamente significativa para sexo do recém nascido, 58,7% das obesas/sobrepeso e 40,63% das eutróficas tiveram filhos do sexo masculino.

Ao nascimento, para ambos os grupos, a idade gestacional foi de aproximadamente 39 semanas, peso 3,2 kg e 37,5 cm de comprimento. E a massa gorda em filhos de mães obesas/sobrepeso (8,08%) não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado à de mães eutróficas (7,37%).

Tabela 5 – Antropometria e composição corporal dos recém-nascidos de gestantes obesas/sobrepeso e eutróficas.

Variáveis	Estado nutricional de gestantes				p
	Obesas e sobrepeso (n=46)		Eutróficas (n=32)		
	n (%)	média (EP)	n (%)	média (EP)	
Sexo do recém-nascido					0,116 ²
Feminino	19 (41,30)		19 (59,38)		
Masculino	27 (58,70)		13 (40,63)		
IG ao nascimento (USG)		39,07 (1,74)		39,58 (1,30)	0,167 ¹
Peso ao nascer (kg)		3,215 (0,53)		3,116 (0,65)	0,466 ¹
Comprimento (cm)		37,52 (19,84)		37,47 (19,94)	0,992 ¹
Perímetro cefálico (cm)		29,24 (12,18)		24,36 (15,31)	0,219 ¹
Circunferência torácica (cm)		24,67 (14,13)		24,88 (14,46)	0,951 ¹
Massa gorda (%)		8,08 (4,85)		7,37 (3,71)	0,504 ¹
Massa gorda (kg)		0,26 (0,19)		0,23 (0,13)	0,427 ¹

¹ - Test T- Student

² - Qui-quadrado

No terceiro trimestre gestacional, das 78 gestantes acompanhadas, a expressão gênica foi analisada em 51, das quais 25 apresentavam sobrepeso ou obesidade e 26 eram eutróficas.

A Figura 4 apresenta os resultados de expressão gênica relativa aos genes *FTO*, *LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *IL10*, *NFkB* e *TNF*, sendo que todos os genes avaliados apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparados às gestantes eutróficas.

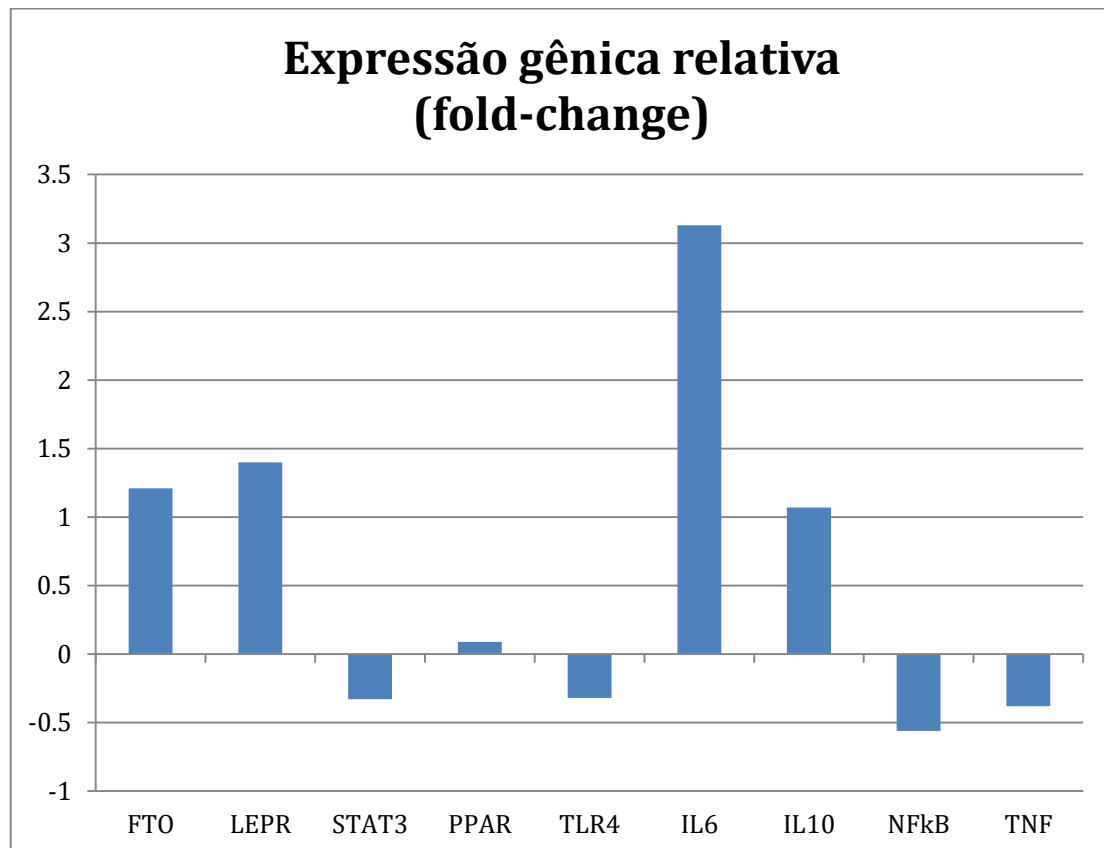


Figura 4. Expressão relativa dos genes *FTO*, *LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *IL10*, *NFkB* e *TNF* em gestantes obesas/sobrepeso em relação à expressão gênica verificada em gestantes eutróficas (*fold-change*).

Não foi possível analisar os dados de expressão gênica para *MC4R*, pois os dados não foram suficientes.

Na tabela 6, apresentam-se os modelos de regressão linear que investigaram a associação entre expressão gênica dos genes *FTO*, *MC4R*, *LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *IL10*, *NFkB* e *TNF* com adiposidade do recém-nascido,

incluindo-se nos modelos, os fatores de confusão especificados em materiais e métodos. Houve necessidade de se considerar modelos individuais na análise, devido a colinearidade entre os genes.

Tabela 6. Modelos de regressão linear considerando como variável resposta a porcentagem de massa gorda do neonato e como variáveis de interesse a expressão dos genes *FTO*, *MC4R*, *LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *IL10*, *NFkB* e *TNF*.

% Massa gorda do neonato				
Modelos	Coefficiente	Erro padrão	IC 95%	Valor <i>P</i>
<i>FTO</i>				
Expressão de <i>FTO</i>	0,227	0,209	-0,193 ; 0,646	0,283
Diabetes gestacional	5,622	2,168	1,260 ; 9,984	0,013
R ² ajust.= 0,16				
<i>MC4R</i>				
Expressão de <i>MC4R</i>	0,004	0,009	-0,024 ; 0,015	0,638
Diabetes gestacional	5,716	0,108	1,305 ; 10,127	0,012
R ² ajust.= 0,14				
<i>LEPR</i>				
Expressão de <i>LEPR</i>	0,290	0,094	0,101 ; 0,480	0,003
Diabetes gestacional	6,022	1,947	2,104 ; 9,941	0,003
HOMA-IR	0,382	0,180	0,185 ; 0,745	0,040
R ² ajust.= 0,32				
<i>STAT3</i>				
Expressão de <i>STAT3</i>	1,947	0,628	0,682 ; 3,211	0,003
IMC pré-gestacional	0,226	0,104	0,016 ; 0,435	0,035
Diabetes gestacional	6,146	1,947	2,227 ; 10,066	0,003
HOMA-IR	0,389	3,441	0,026 ; 0,752	0,036
R ² ajust.= 0,32				
<i>PPARG</i>				
Expressão de <i>PPARG</i>	1,246	0,432	0,379 ; 2,113	0,006

(continuação)				
<i>TLR4</i>				
Expressão de <i>TLR4</i>	2,416	1,022	0,360 ; 4,472	0,022
IMC pré-gestacional	0,272	0,108	0,055 ; 0,488	0,015
Diabetes gestacional	6,477	2,087	2,278 ; 10,677	0,003
R ² ajust.=0,23				
<i>IL6</i>				
Expressão de <i>IL6</i>	0,233	0,082	0,677 ; 0,398	0,007
R ² ajust.=0,12				
<i>IL10</i>				
Expressão de <i>IL10</i>	0,229	0,207	-0,188 ; 0,646	0,275
Diabetes gestacional	6,015	2,168	1,653 ; 10,376	0,008
R ² ajust.=0,16				
<i>NFkB</i>				
Expressão de <i>NFkB</i>	4,588	1,495	1,579 ; 7,597	0,004
IMC pré-gestacional	0,362	0,125	0,109 ; 0,615	0,006
Diabetes gestacional	6,789	1,978	-0,130 ; 0,217	0,001
HOMA-IR	0,433	0,182	0,067 ; 0,799	0,021
R ² ajust.= 0,32				
<i>TNF</i>				
Expressão de <i>TNF</i>	3,629	1,239	1,135 ; 6,123	0,005
IMC pré-gestacional	0,256	0,109	0,354 ; 0,476	0,024
Diabetes gestacional	6,140	1,966	2,183 ; 10,098	0,003
HOMA-IR	0,461	0,185	0,892 ; 0,833	0,016
R ² ajust.=0,31				

Variáveis de controle mantidas nos modelos (IMC pré-gestacional, ganho de peso, diabetes gestacional, HOMA-IR). IC = intervalo de confiança; HOMA-IR = *homeostatic model assessment*.

Dos genes relacionados à obesidade, permaneceram estatisticamente associados ao desfecho *LEPR*, *STAT3*, *PPARG* e *TLR4*, após controle pelas variáveis de confusão. Em relação aos genes relacionados à inflamação apenas *IL6*, *NFkB* e *TNF* foram associados com o percentual de gordura do recém-nascido.

Nos modelos *FTO* e *MC4R*, embora a expressão gênica não tenha sido associada com o percentual de gordura do neonato, observa-se que a presença de diabetes gestacional associou-se ao desfecho, como esperado, aumentando em média 5,62% e 5,71%, respectivamente, o percentual de gordura corporal da

criança.

No modelo *LEPR*, a expressão deste gene aumentou em média 0,29% o percentual de gordura do neonato; a presença de diabetes gestacional, aumentou em média 6,02% o percentual de massa gorda do RN, e para cada unidade de HOMA-IR o percentual de gordura da criança foi elevado 0,38% em média.

Em relação ao modelo *STAT3*, além da expressão gênica, presença de diabetes gestacional e HOMA-IR, o IMC pré-gestacional também mostrou-se associado ao desfecho. Para cada uma destas variáveis, houve, respectivamente, aumento médio aproximado de 1,95%, 6,15%, 0,39 e 0,23% na porcentagem de massa gorda do neonato.

No modelo *PPARG*, apenas a expressão gênica foi estatisticamente associada ao desfecho, aumentando em média 1,26% o percentual de gordura do neonato.

O modelo *TLR4*, apresentou associados ao desfecho a expressão gênica, aumentando em 2,42% a porcentagem de gordura neonatal, o IMC pré-gestacional, com aumento médio de 0,27% para cada aumento na unidade de IMC e a presença de diabetes gestacional, aumentando em 6,48% a porcentagem de gordura neonatal.

Quanto aos genes relacionados à inflamação, a expressão de *IL6*, *NFkB* e *TNF* aumentaram, respectivamente, em média 0,23%, 4,59% e 3,63% o percentual de massa gorda do neonato. O modelo *IL6*, foi o único em que apenas a expressão gênica foi estatisticamente associada ao desfecho. Nos modelos *NFkB* e *TNF*, o IMC pré-gestacional, Diabetes gestacional e HOMA-IR, aumentaram em média o percentual de gordura do neonato em 0,36%, 6,79%, 0,43% e 0,26%, 6,14%, 0,46%, respectivamente.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que tanto o fator expressão gênica (*LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *NFkB* e *TNF*) como fatores nutricionais e metabólicos maternos (IMC pré-gestacional, ganho de peso, HOMA-IR e diabetes mellitus gestacional) estão relacionados com a adiposidade do concepto logo após ao nascimento. O desenvolvimento fetal é um processo biológico complexo, regulado tanto por fatores maternos quanto fetais, incluindo influências genéticas e ambientais. De acordo com revisões realizadas na literatura internacional, o estudo apresentado nesta dissertação é inédito.

Os mecanismos de regulação da expressão gênica influenciam a modulação da resposta inflamatória, o que repercute na saúde materna. A expressão de sete dos dez genes investigados mostrou-se estatisticamente associada com a adiposidade do recém-nascido, independente de alguns genes serem mais ou menos expressos em gestantes obesas/sobrepeso.

O gene *FTO* é associado à ingestão alimentar e ao balanço energético, porém seus mecanismos ainda precisam ser mais estudados. A expressão do gene *LEPR* apresentou-se aumentada em obesas/sobrepeso, em concordância com estudo em animais (OGAWA *et al*, 2014) que induziu restrição de alimento para fêmeas prenhas e encontrou expressão *LEPR* aumentada, no fígado.

A despeito dos resultados obtidos por AYE *et al* (2014), que investigou a concentração e expressão de citocinas pró-inflamatórias, no sangue materno e na placenta, observou que a expressão total de *STAT3* não foi alterada pelo IMC materno, enquanto que no presente estudo, o gene *STAT3*, apresentou expressão menor em obesa/sobrepeso do que em eutróficas.

O diabetes gestacional é definido como intolerância à glicose desenvolvida ou diagnosticado durante a gestação, e figura como uma das complicações mais importantes deste período (KHOSROWBEYGI *et al.*, 2018). No presente estudo, verificamos que gestantes obesas apresentaram valores de HOMA-IR, insulinemia e trigliceridemia aumentados em relação a gestantes eutróficas. Conforme

esperado, foi encontrada correlação positiva entre HOMA-IR, insulina e triglicérides maternos e adiposidade no neonato e peso ao nascer.

Esperava-se que estes valores aumentados de biomarcadores plasmáticos correspondessem à maior expressão do gene *TNF*, uma vez que esta citocina apresenta-se como responsável pelo aumento da resistência à ação da insulina durante a gestação. Contudo, neste estudo, a expressão do gene *TNF* foi menor em gestantes obesas/sobrepeso quando comparadas às eutróficas.

A obesidade influencia diretamente na inflamação crônica, sistêmica e de baixo grau, promovendo aumento da concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórias. A IL-6, que tem papel relevante no aumento da expressão gênica hepática da PCR (ROGERO e CALDER, 2018), poderia explicar o aumento deste biomarcador (PCR-us) no plasma de gestantes obesas/sobrepeso.

A despeito deste quadro pró-inflamatório, o gene *TLR4* que participa do controle inflamatório e imunológico apresentou expressão relativa diminuída em relação às eutróficas, que pode ter sofrido o efeito anti-inflamatório do gene *IL-10*.

Embora a expressão de *IL-6* sugerisse maior expressão de *NFkB*, neste estudo, foi observado que o grupo de gestantes obesa/sobrepeso teve expressão menor deste gene do que as eutróficas. O mesmo aconteceu para os genes *TNF-alpha* e *PPARG*.

O equipamento 7500 Fast para qPCR é configurado para reconhecer expressões gênicas com fluorescência em até 40 ciclos, porém, foi suficiente para representar o gene *MC4R*. Isto indica que este gene é pouquíssimo expresso no tecido analisado, pois se conhece melhor sua atuação em células do hipotálamo. Conclui-se que a investigação deste gene no sangue total é bastante limitada.

A associação entre obesidade materna, avaliada por IMC, e tamanho do recém-nascido é bem documentada. Segundo revisão e meta-análise realizada por GAUDET *et al.* (2014) há evidências de que a obesidade está associada ao excessivo crescimento fetal. Os autores observaram que a obesidade materna estava associada com uma chance 142% maior do concepto nascer grande para a idade gestacional, 117% maior de nascer com peso > 4 kg e 277% maior de

nascer com peso > que 4,5 kg. Os fatores de risco para macrossomia identificados nessa metaanálise foram: diabetes mellitus antes e durante a gestação, história de macrossomia prévia, idade gestacional maior que 42 semanas, IMC materno maior que 25 e neonato do sexo masculino.

Diversos estudos indicam que crianças nascidas em famílias obesas têm risco aumentado para desenvolver esta condição e que, principalmente, a saúde e o estilo de vida maternos contribuem para filhos com excesso de peso (LIU *et al.* 2016, SAVONA-VENTURA *et al.* 2015). LIMA *et al.* (2018), verificaram que o maior IMC pré-gestacional se correlaciona com maior peso ao nascer, corroborando com nossos resultados.

De maneira semelhante, STARLING *et al.* (2015), mostrou que IMC pré-gestacional e ganho de peso estão positiva e independentemente associados à adiposidade neonatal. Assim como, neste estudo, utilizando equipamento semelhante de pletismografia por deslocamento de ar, também foi possível verificar correlação positiva entre adiposidade neonatal e IMC materno pré-gestacional, IMC no terceiro trimestre e ganho de peso gestacional.

A obesidade materna está associada à morbidade materna, como diabetes e hipertensão gestacionais, e está associada também à desfechos neonatais desfavoráveis, como crescimento fetal excessivo e prejuízos metabólicos ao longo da vida (MITANCHEZ e CHAVATTE-PALMER, 2018).

Sugerindo que a orientação correta no serviço de saúde pode ter grande impacto no controle do ganho de peso e prevenção de morbi-mortalidade, BRAQUIEL *et al.* (2018), mostrou que gestantes com obesidade mórbida tiveram benefícios limitando ganho de peso até 5kg. Isto foi possível devido rigoroso acompanhamento profissional durante pré-natal. Diferentemente, neste presente estudo, observou-se grande variação de ganho de peso gestacional entre o grupo obesas/sobrepeso. Houve casos de perda de 4kg e outros, de ganho de até 23,95kg, mostrando deficiência na compreensão e execução de orientações.

7. CONCLUSÃO

Neste estudo foi observada associação entre a expressão gênica materna dos genes *LEPR*, *STAT3*, *PPARG*, *TLR4*, *IL6*, *NFkB* e *TNF* e adiposidade dos recém-nascidos. Além da expressão gênica, também o IMC pré-gestacional, ganho de peso, diabetes mellitus gestacional e HOMA-IR foram associados com adiposidade dos recém-nascidos.

O entendimento das diferentes vias do processo inflamatório, imunológico e sinalização da resistência à insulina são intimamente relacionados e dependentes, portanto, é imprescindível nos estudos a respeito da obesidade, suas causas e repercussões.

Da mesma forma, a elucidação dos fatores envolvidos no início da vida, observados neste estudo, e que podem ser prevenidos no pré-natal, devem ser cruciais para as políticas de saúde pública, na prevenção da obesidade infantil.

8. REFERÊNCIAS

Anghebem-Oliveira MI, Martins BR, Alverton D, Ramos EAS, Picheth G, Rego FGM. Type 2 diabetes-associated genetic variants of *FTO*, *LEPR*, *PPARg*, and *TCFL2* in gestational diabetes in Brazilian population. *Arch Endocrinol Metab*. 2017;61(3):238-247.

Archer E. The childhood obesity epidemic as a result of non-genetic evolution: the maternal resources hypothesis. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(1):77-92.

Aye IL, Lager S, Ramirez VI, Gaccioli F, Dudley DJ, Jansson T, Powell TL. Increasing maternal body mass index is associated with systemic inflammation in the mother and the activation of distinct placental inflammatory pathways. *Biol Reprod*. 2014;90(6):129.

Ayyavoo A, Derraik JG, Hofman PL, Biggs J, Cutfield WS. Metabolic, cardiovascular and anthropometric differences between prepubertal girls and boys. *Clin Endocrinol* 2014;81:238–43.

Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*. 1986;327:1077–1081.

Barquiel, Herranz L, Meneses D, Moreno O, Hillman N, Burgos MA, Bartha JL. Optimal gestational weight gain for women with gestational diabetes and morbid obesity. *Matern Child Health J*. 2018;22(9):1297-1305.

Bastien M, Poirier P, Lemieux I, Després JP. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2014;56:369–81.

Bocca G, Ongering EC, Stolk RP, Sauer PJ. Insulin resistance and cardiovascular risk factors in 3-to 5-year-old overweight or obese children. *Horm Res Paediatr* 2013; 80:201–6.

Buksh MJ, Hegarty JE, Griffith R, Alsweiler JM, McKinlay CJ, Harding JE; hPOD Study Team. Relationship between BMI and adiposity among different ethnic groups in 2-year-old New Zealand children. *Br J Nutr*. 2019;121(6):670-677

Butler EM, Derraik JGB, Taylor RW, Cutfield WS. Childhood obesity: how long should we wait to predict weight? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018 (online). DOI

10.1515/jpem-2018-0110

Butler EM, Derraik JGB, Taylor RW, Cutfield WS. Prediction models for early childhood obesity: applicability and existing issues. *Horm Res Paediatr*. 2019 (online). DOI: 10.1159/000496563

Calder PC. Fatty acids and inflammation: The cutting edge between food and pharma. *Eur. J. Pharmacol*. 2011;668:50–58.

Calder PC, Yaqoob P. Marine omega-3 fatty acids and coronary heart disease. *Curr. Opin. Cardiol*. 2012;27:412–419.

Calder PC, Ahluwalia N, Albers R, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Haller D, Holgate ST, Jönsson LS, Latulippe ME, Marcos A, et al. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *Br. J. Nutr*. 2013;109:1–34.

Chawla R, Badon SE, Rangarajan J, Reisetter AC, Armstrong LL, Lowe LP et al.

Garfinkel BP, Hotamisligil GS. ER Stress Promotes Inflammation through Rewired Macrophages in Obesity. *Mol Cell*. 2017.15;66(6):731-733. doi: 10.1016/j.molcel.2017.05.037.

Genetic risk score for prediction of newborn adiposity and large-for-gestational-age birth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(11):E2377-86.

Cheng SB, Sharma S. Interleukin-10: A pleiotropic regulator in pregnancy, *Am. J. Reprod. Immunol*. 2015;73: 487–500.

Chomczynski P, SACCHI N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162(1):56–159.

Cominetti C, Rogero MM, Horst MA. Genômica nutricional: dos fundamentos à nutrição molecular. Barueri; 2017.

Daraki V, Georgiou V, Papavasiliou S, Chalkiadaki G, Karahaliou M, Koinaki S, Sarri, K, Vassilaki M, Kogevinas M, Chatzi L. Metabolic profile in early pregnancy is associated with offspring adiposity at 4 years of age: The Rhea Pregnancy Cohort Crete, Greece. *PLoS One*. 2015;10(5):1-18.

Dhurandhar EJ, Keith SW. The aetiology of obesity beyond eating more and exercising less. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2014;28:533-544.

Dolan MS, Sorkin JD, Hoffman DJ. Birth weight is inversely associated with central adipose tissue in healthy children and adolescents. *Obesity* 2007;15:1600–8.

Edlow AG, HuiL, Wick HC, Fried I, Bianchi DW. Assessing the fetal effects of maternal obesity via transcriptomic analysis of cord blood: a prospective case-control study. *BJOG*. 2016;123:180-9

Ekelund U, Ong K, Linne Y, Neovius M, Brage S, Dunger DB, et al. Upward weight percentile crossing in infancy and early childhood independently predicts fat mass in young adults: the Stockholm Weight Development Study (SWEDES). *Am J Clin Nutr* 2006;83:324–30.

Ertunc ME, Hotamisligil GS. Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: Indications for metabolic disease pathogenesis and treatment. *J. Lipid Res*. 2016; 57:2099–2114.

Fleming TP, Watkins A, Velazquez MA, Mathers JC, Prentice AM, Stephenson J, Barker ME, Saffery R, Yajnik CS, Eckert JJ, Hanson MA, Forrester T, Gluckman PD, Godfrey KM. Origins of lifetime health around the time of conception: causes and consequences. *Lancet*. 2018;391(10132):18442-1852.

Gaudet L, Ferraro ZM, Wen SW, Walker M. Maternal obesity and occurrence of fetal macrosomia: a systematic review and meta-analysis. *BioMed Res Int*. 2014 (online). doi: 10.1155/2014/640291

Heiston EM, Malin SK. Impact of Exercise on Inflammatory Mediators of Metabolic and Vascular Insulin Resistance in Type 2 Diabetes. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1134:271-294.

Hoffman DJ, Reynolds RM, Hardy DB. Developmental origins of health and disease: current knowledge and potential mechanisms. *Nutr Rev*. 2017;75(12):951-970.

Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*. 2017; 542:177–185.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de

alimentos no Brasil. Rio de Janeiro; 2010.

Kadouh HC; Acosta A. Current paradigms in the etiology of obesity. *Tech Gastr End End Bariatr Proc: Considerations and Expectations*. 2017; 19(1):2–11.

Katzow M, Messito MJ, Mendelsohn AL, Scott MA, Gross RS. The Protective Effect of Prenatal Social Support on Infant Adiposity in the First 18 Months of Life. *J Pediatr*. 2019. DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.02.017.

Khosrowbeygi A, Rezvanfar MR, Ahmadvand H. Tumor necrosis fator- α , adiponectin and their ratio in gestational diabetes mellitus. *Caspian J Intern Med*. 2018; 9(1):71-77.

Lau C, Rogers JM, Desai M, Ross MG. Fetal programming of adult disease. *Ob Gyn*. 2011;117(4):978-985.

Lavie CJ, Laddu D, Arena R, Ortega FB, Alpert MA, Kushner RF. Health weight and obesity prevention. *JACC*. 2018;72(13):1506-31.

Lima RJCP, Batista RFL, Ribeiro MRC, Ribeiro CCC, Simões VMF, Lima Neto PML, da Silva AAM, Bettiol H. Prepregnancy body mass index, gestational weight gain, and birth weight in the BRISA cohort. *Rev Saude Publica*. 2018;52(46):1-10.

Liu P, Xu L, Wang Y, Zhang Y, Du Y, Sun Y, Wang Z. Association between perinatal outcomes and maternal pre-pregnancy body mass index. *Obes Rev*. 2016;17(11):1091-1102.

Lopes LL, Bressan J, Peluzio MDCG, Hermsdorff HHM. LINE-1 in Obesity and Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review. *J Am Coll Nutr*. 2019;12:1-7.

Lowell BB, Susulic V, Hamann A, Lawitts JA, Himms-Hagen J, Boyer BB, Kozak LP, Flier JS. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature*. 1993;366:740–742.

Maltin CA, Delday MI, Sinclair KD, Steven J, Sneddon AA. Impact of manipulations of myogenesis in utero on the performance of adult skeletal muscle. *Reproduction* 2001;122:359–74.

Marginean C, Marginean CO, Iancu M, Melit LE, Tripon F, Banescu C. The FTO rs9939609 and LEPR rs1137101 mothers-newborns gene polymorphisms and maternal fat mass index effects on anthropometric characteristics in newborns. *Medicine*. 2016;95(49):e5551.

Martino J, Sebert S, Segura MT, García-Valdés L, Florido J, Padilla MC et al. Maternal body weight and gestational diabetes differentially influence placental and pregnancy outcomes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015. doi:10.1210/jc.2015-2590.

Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9

McCarthy HD, Jarrett KV, Crawley HF. The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0–16.9 y. *Eur J Clin Nutr* 2001;55:902–7.

Meyer DM, Brei C, Stecher L, Much D, Brunner S, Hauner H. Cord blood and child plasma adiponectin levels in relation to childhood obesity risk and fat distribution up to 5 years. *Pediatric Research*. 2016. doi:10.1038/pr.2016.275.

Mitanez D, Chavatte-Palmer P. Review shows that maternal obesity induces adverse neonatal effects and is associated with childhood obesity in their offspring. *Acta Paediatr*. 2018;107(7):1156-1165.

Molfino A, Amabile MI, Monti M, Muscaritoli M. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Critical Illness: Anti-Inflammatory, Proresolving, or Both? *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2017;5987082. doi: 10.1155/2017/5987082.

Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site, *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2011;1221:80–87.

Mostyn A, Symonds ME. Early programming of adipose tissue function: a large animal perspective. *Proc Nutr Soc* 2009;68:393–400.

Newby PK, Dickman PW, Adami HO, Wolk A. Early anthropometric measures and reproductive factors as predictors of body mass index and obesity among older women. *Int J Obes* 2005;29:1084–92

Ogawa T, Shibato J, Rakwal R, Saito T, Tamura G, Kuwagata M, Shioda S. Seeking genes responsible for developmental origins of health and disease from the fetal mouse liver following maternal food restriction. *Congenit Anom* 2014;54(4):195-219.

Pan W, Allison MB, Sabatini P, Rupp A, Adams J, Patterson C, Jones JC, Olson

DP, Myers MG Jr. Transcriptional and physiological roles for STAT proteins in leptin action. *Molec Metab*. 2019 (online). DOI: 10.1016/j.molmet.2019.01.007

Pereira-Freire JA, Lemos JO, de Sousa AF, Meneses CC, Rondó PH. Association between weight at birth and body composition in childhood: A Brazilian cohort study. *Early Hum Dev*. 2015;91(8):445-9.

Persson M, Ekerfelt C, Ernerudh J, Matthiesen L, Abeliu MS, Jonsson Y, Berg G, Jenmalm MC. Reduced IFN- γ and IL-10 responses to paternal antigens during and after pregnancy in allergic women, *J. Reprod. Immunol*. 2012;95:50–58.

Polari L, Himanshu K, Rautava S, Salminen S, Isolauri E. Increase in serum Interleukin-10 does not alleviate pro-inflammatory MCP-1 production in obese pregnancies. *Cytokine*. 2018; 108:67-70.

Prentice KJ, Saksi J, Hotamisligil GS. Adipokine FABP4 integrates energy stores and counterregulatory metabolic responses. *J Lipid Res*. 2019;60(4):734-740. doi: 10.1194/jlr.S091793.

Qasim A, Turcotte M, de Souza RJ, Samaan MC, Champredon D, Dushoff J, Speakman JR, Meyre . On the origin of obesity: identifying the biological, environmental and cultural drivers of genetic risk among human populations. *Obes Rev*. 2018(2):121-149

Rogero MM, Calder PC. Obesity, inflammation, Toll-like receptor 4 and fatty acids. *Nutrients*. 2018;10(4):432-442.

Samuel, V.T.; Shulman, G.I. Mechanisms for insulin resistance: Common threads and missing links. *Cell*. 2012;148:852–871.

Sayer AA, Syddall HE, Dennison EM, Gilbody HJ, Duggleby SL, Cooper C, et al. Birth weight, weight at 1 y of age, and body composition in older men: findings from the Hertfordshire Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 2004;80:199–203.

Savona-Ventura C, Savona-Ventura S. The inheritance of obesity. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2015;29(3):300-8. doi:10.1016/j.bpobgyn.2014.07.023.

SBP - Sociedade Brasileira de Pediatria. *Obesidade na infância e adolescência - Manual de Orientação*. São Paulo; 2012.

Singhal A, Wells J, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Programming of lean body mass: a link between birth weight, obesity, and cardiovascular disease? *Am J Clin Nutr*

2003;77:726–30.

Starling AP, Brinton JT, Glueck DH, Shapiro AL, Harrod CS, Lynch AM, Siega-Riz NA, Dabelea D. Associations of maternal BMI and gestational weight gain with neonatal adiposity in the Healthy Start study. *Am J Clin Nutr.* 2015;101:302-9.

Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 2008;19:371–379.

Tuan NT, Wang Y. Adiposity assessments: agreement between dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric measures in U.S. children. *Obesity* 2014;22: 1495–504.

Whitaker KL, Jarvis M, Beeken RJ, Boniface D, Wardle. Comparing maternal and paternal intergenerational transmission of obesity risk in a large population-based sample. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:1560-7.

WHO - World Health Organization. Joint child malnutrition estimates - Levels and trends. Geneva; 2017. Acessado em 05/10/2018. Disponível em: http://www.who.int/nutgrowthdb/jme_brochure2017.pdf?ua=1

WHO – World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva; 2000.

WHO – World Health Organization. Taking action on childhood obesity. Geneva; 2018. Acessado em 05/10/2018. Disponível em <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274792/WHO-NMH-PND-ECHO-18.1-eng.pdf?ua=1>.

WHO – World Health Organization. World Health Organization Obesity and Overweight Fact Sheet (2016).

Woo JG. Infant growth and long-term cardiometabolic health: a review of recent findings. *Curr Nutr Rep.* 2019 (online). DOI: 10.1007/s13668-019-0259-0

Yajnik CS, Fall CH, Coyaji KJ, Hirve SS, Rao S, Barker DJ, et al. Neonatal anthropometry: the thin-fat Indian baby. The Pune Maternal Nutrition Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27:173–80.

Zhao Y, Wang SF, Mu M, Sheng J. Birth weight and overweight/obesity in adults: a meta-analysis. *Eur J Pediatr* 2012;171:1737–46.