UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO

HENRIQUE MARCONDES DE AQUINO MARQUES

RECEPTOR NUCLEAR ATIVADO POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMA GAMA (PPARγ) E SUA RELAÇÃO COM AS PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS TRANSPORTADORAS DE ÁCIDOS GRAXOS (FATP-1 E FATP-4) EM GESTAÇÕES COM RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO INTRAUTERINO (RCIU)

RIO DE JANEIRO
2016

Henrique Marcondes de Aquino Marques

RECEPTOR NUCLEAR ATIVADO POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMA GAMA (PPARγ) E SUA RELAÇÃO COM AS PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS TRANSPORTADORAS DE ÁCIDOS GRAXOS (FATP-1 E FATP-4) EM GESTAÇÕES COM RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO INTRAUTERINO (RCIU)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana.

Orientadores: Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo

Drª. Flávia Brasil Spreafico

RIO DE JANEIRO

2016

Henrique Marcondes de Aquino Marques

RECEPTOR NUCLEAR ATIVADO POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMA GAMA (PPARγ) E SUA RELAÇÃO COM AS PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS TRANSPORTADORAS DE ÁCIDOS GRAXOS (FATP-1 E FATP-4) EM GESTAÇÕES COM RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO INTRAUTERINO (RCIU)

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana.

Banca examinadora

_____

Maria das Graças Tavares do Carmo, doutora em Farmacologia pela Universidade Federal de São Paulo, profa. Titular na Universidade Federal do Rio de Janeiro (Orientadora)

_____

Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha, doutora em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo, profa. Associada na Universidade Federal do Rio de Janeiro (Titular revisor)

_____

Eliane Lopes Rosado, doutora em Ciencia e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, profa, Associada na Universidade Federal do Rio de Janeiro (Titular)

_____

Marta Citelli dos Reis, doutora em Ciências pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, profa Adjunta na Universidade do Estado do Rio de Janeiro (Titular)

Dedico esta dissertação

A Deus.

Aos meus pais Suzana e Iran, por toda educação que me proporcionaram com muito amor e empenho, pelos conselhos dados e por acreditarem em mim a cada momento.

À minha mãe que sempre esteve pronta para me animar e aconselhar.

Ao meu pai que sempre apoiou minha jornada.

Aos meus amigos que me deram força todo o tempo.

Agradecimentos

A Deus por ser minha força diária, por ser minha motivação em meio das dificuldades que aparecem, minha salvação e alegria.

Aos meus familiares e amigos que me apoiaram em cada etapa desta jornada, incentivando nos momentos mais difíceis.

Às professoras Marta Citelli, Simone Vargas e Cristiane Ribeiro, e seus orientandos, que foram fundamentais na construção deste estudo, dando apoio metodológico durante os experimentos, por terem nos recebido de braços abertos e pelo apoio nesta jornada.

Agradecimento especial às gestantes voluntárias, pelo interesse em participar desta pesquisa, sem isso todo este trabalho não seria possível.

Às minhas orientadoras Maria das Graças Tavares do Carmo e Flávia Brasil Spreafico, pela orientação, por todo conhecimento transmitido, pela paciência nos momentos difíceis do trabalho e pelo tempo disponibilizado.

RESUMO

MARQUES, Henrique Marcondes de Aquino. Receptor nuclear ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPARγ) e sua relação com as proteínas placentárias transportadoras de ácidos graxos (FATP-1 e FATP-4) em gestações com restrição de crescimento intrauterino (RCIU). Rio de Janeiro, 2016 – Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana), Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Restrição de Crescimento Intrauterino (RCIU) ocorre quando o feto não alcança seu potencial de crescimento no útero e está associada com morbi-mortalidade perinatal. Ácidos graxos de cadeia longa (AGPI-CL) ativam a expressão dos PPARγ e, assim, regulam a expressão das proteínas placentárias FATP 1 e 4, envolvidas na captação destas moléculas lipídicas. O objetivo dessa dissertação foi quantificar as proteínas FATP-1 e FATP-4 e o receptor nuclear PPARγ em placentas de gestantes adultas, normais e com RCIU, e associar com as concentrações sanguíneas de AGPI-CL, nos compartimentos materno-fetais. Amostras de eritrócitos materno-fetais e placenta foram coletadas de 23 gestantes, com fetos com e sem RCIU, por ocasião do parto, realizado na Maternidade Escola da UFRJ. Para quantificação proteica, em homogenato de placenta, foi utilizado Western Blot e a concentração de AGPI-CL, em eritrócitos materno-fetais, foi determinada por cromatografia gasosa. Placentas de gestantes com RCIU apresentaram maiores concentrações de FATP-1 e PPARγ, comparadas a do grupo Controle ($p=0,046$ e $p=0,0038$, respectivamente). Menores concentrações do AGPI-CL DHA (ácido docosahexaenoico) em eritrócitos, tanto maternos, quanto do sangue do cordão foram identificadas no grupo RCIU ($p<0,05$). Além disso, nos eritrócitos do sangue materno, o conteúdo deste lipídio apresentou correlação positiva com o de PPARγ na placenta. Esses achados são sugestivos de que, nas situações em que os teores de AGPI-CL circulantes maternos encontram-se alterados, como na RCIU, o transporte placentário de AGPI-CL parece ser potencializado, mediante ativação compensatória, tendo em vista o aumento da quantidade do receptor nuclear PPARγ na placenta. Entretanto, o maior conteúdo de FATP-1 não foi suficiente para assegurar transporte eficiente de AGPI-CL para o feto com RCIU.

Palavras chave: ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, gestação, PPARγ, proteína transportadora de ácido graxo, placenta, restrição de crescimento intrauterino.

ABSTRACT

MARQUES, Henrique Marcondes de Aquino. Nuclear peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) and its relationship to the placental fatty acid carrier proteins (FATP -1 and FATP -4) in pregnancies with intrauterine growth restriction (IUGR). Rio de Janeiro, 2016 – Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana), Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

Intrauterine Growth Restriction (IUGR) occurs when the fetus does not reach its growth potential in the uterus and is associated with perinatal morbidity and mortality. Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) activate the expression of PPAR gamma and thus regulate the expression of placental proteins FATP 1 and 4 involved in the uptake of these lipid molecules. The purpose of this dissertation was to quantify the FATP-1 and FATP-4 protein and the nuclear PPAR gamma in placentas of pregnant adults, normal and IUGR, and associate with blood concentrations of LC-PUFA in maternal and fetal compartments. Samples of maternal-fetal red blood cells and placenta were collected from 23 pregnant women with and without IUGR, and held at the Maternity School of UFRJ. For protein quantification, in placenta homogenate, was used western blot and LC-PUFA concentration, in maternal-fetal blood, was determined by gas chromatography. Placentas of pregnant women with IUGR showed higher concentrations of FATP-1 and PPAR gamma, compared to the control group ($p = 0.046$ and $p = 0.0038$, respectively). Lower concentrations of LC-PUFA DHA (docosahexaenoic acid) in both maternal and cord blood erythrocytes were identified in IUGR group ($p < 0.05$). Moroever, DHA levels in the maternal erythrocytes were correlated positively with PPAR gamma levels in placenta. These findings suggest that in pregnancies with IUGR, where maternal circulating LC-PUFA levels were altered, placental LC-PUFA transfer seems to be potentiated by the compensatory activation in order to increase the amount of the PPAR gamma nuclear receptor in the placenta. However, higher content of FATP-1 was not sufficient to ensure efficient transport of LC-PUFA to the fetus with IUGR.

Keywords: long chain polyunsaturated fatty acids, PPAR gamma, fatty acid transport protein, placenta, intrauterine growth restriction.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA	ácido araquidônico
AG	ácido graxo
AGPI-CL	ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa
AGE	ácido graxo essencial
AGNE	ácido graxo não esterificado
ALA	*alpha-linolenic acid* , ácido alfa-linolênico
LA	*linoleic acid,* ácido linoleico
mA	miliampére
RCIU	restrição de crescimento intrauterino
DHA	*docosahexaenoic acid,* ácido docosahexaenoico
EPA	*eicosapentaenoic acid* , ácido eicosapentaenoico
FATP	*fatty acid transport protein,* proteína transportadora de ácido graxo
FABP	*fatty acid binding protein,* proteína ligante de ácido graxo
FABPpm	*plasma membrane fatty acid binding protein,* proteína ligante de ácido graxo da membrana plasmática
IMC	índice de massa corporal
IOM	*Institute of Medicine,* Instituto de Medicina
LXR	*liver x receptor,* receptor x hepático
ME/UFRJ	Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPARγ	*peroxisome proliferator-activated receptor gamma,* Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
RXR	*retinoid x receptor,* receptor x retinoide
SREBP	*sterol regulatory element-binding protein,* proteína ligante do elemento regulador de esterois

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática do início da implantação da placenta.	**19**
Figura 2	Representação esquemática da estrutura da placenta.	**20**
Figura 3	Esquema da estrutura e função do sinciciotrofoblasto.	**22**
Figura 4	Metabolismo dos ácidos graxos das séries n-6 e n-3.	**25**
Figura 5	Representação esquemática dos mecanismos de transporte placentário de ácidos graxos e seus potenciais destinos metabólicos dentro da placenta.	**28**
Figura 6	Modelo de transporte placentário de ácidos graxos.	**29**
Figura 7	Funções do PPARγ (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*).	**31**
Figura 8	Cascata de sinalização do PPARγ**.**	**32**
Figura 9	Funções do PPARγ na placenta.	**33**
Figura 10	Teores da proteína transportadora de ácidos graxos FATP-1 na placenta dos grupos Controle e RCIU.	**46**
Figura 11	Teores da proteína transportadora de ácidos graxos FATP-4 na placenta dos grupos Controle e RCIU.	**47**
Figura 12	Teores de PPARγ na placenta dos grupos Controle e RCIU.	**48**
Figura 13	Conteúdo de ácidos graxos essenciais e derivados de cadeia longa em eritrócitos de sangue materno nos grupos Controle e RCIU.	**49**
Figura 14	Conteúdo de ácidos graxos essenciais e derivados de cadeia longa em eritrócitos de sangue fetal nos grupos Controle e RCIU.	**49**
Figura 15	Conteúdo de AA, EPA, DPA e DHA em eritrócitos de sangue materno nos grupos Controle e RCIU.	**50**
Figura 16	Conteúdo de AA, EPA, DPA e DHA em eritrócitos de sangue fetal nos grupos Controle e RCIU.	**51**

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Principais fatores de risco para RCIU	**17**
Tabela 1	Características maternas associadas à gestação de recém-nascidos Controle e RCIU, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.	**44**
Tabela 2	Caracterização do estado nutricional antropométrico dos recém-nascidos e variáveis do parto, grupos Controle e RCIU, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.	**45**

LISTA DE ANEXOS

Anexo - A Aprovação do projeto no Comitê de Ética

Anexo - B Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo - C Autorização para inclusão dos filhos no estudo

Anexo - D Rotinas assistenciais da maternidade escola da UFRJ - RCIU

Sumário

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	Restrição de crescimento intrauterino: conceito, prevalência, etiologia e consequências para o feto	16
2.2	Anatomia e desenvolvimento da placenta	18
2.3	Funções da placenta	20
2.4	Alterações placentárias em RCIU	23
2.5	Importância dos ácidos graxos essenciais (AGE) e seus derivados de cadeia longa no crescimento fetal	26
2.6	A placenta no transporte específico de ácidos graxos	26
2.7	PPARγ, placenta e desenvolvimento fetal	30
3	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	34
4	OBJETIVOS	35
4.1	Objetivo geral	35
4.2	Objetivos específicos	35
5	MÉTODOS	36
5.1	Delineamento do estudo, captação de participantes e questões éticas	36
5.2	Critérios de elegibilidade	36
5.3	Coleta de informações sociodemográficas, obstétricas e da assistência pré-natal	37
5.4	Avaliação antropométrica materna	37
5.5	Avaliação antropométrica do recém-nascido	37
5.6	Diagnóstico de restrição de crescimento intrauterino	38
5.7	Coleta e armazenamento de amostras biológicas	38
5.8	Quantificação de proteínas envolvidas no transporte de ácidos graxos na placenta e do receptor nuclear PPARγ	39

5.9 Determinação de ácidos graxos em eritrócitos maternos e do cordão umbilical 40

5.10 Análise estatística 41

6 RESULTADOS 42

6.1 Caracterização sociodemográfica, obstétrica e antropométrica das gestantes 42

6.2 Caracterização do estado nutricional antropométrico dos recém-nascidos e variáveis do parto 43

6.3 Conteúdo das proteínas transportadoras de ácidos graxos, FATP-1 e FATP-4, e do receptor nuclear PPARγ na placenta 44

6.4 Conteúdo de ácidos graxos no sangue materno e do cordão umbilical 47

6.5 Análise dos testes de correlação 50

7 DISCUSSÃO 51

8 CONCLUSÃO 55

REFERÊNCIAS 57

ANEXOS 65

1 INTRODUÇÃO

A importância dos lipídios na nutrição e desenvolvimento humano é reconhecida há muitas décadas (INNIS, 2014). Durante o crescimento fetal, especialmente ao longo do terceiro trimestre da gestação, a demanda por ácidos graxos (AG) está aumentada (SCHAIFF et al., 2005). A aquisição de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPI-CL), como o ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3) e o ácido araquidônico (AA, 20:4 n-6), essenciais para o crescimento e o desenvolvimento do cérebro e retina, é fundamental neste período (HADLEY et al., 2016). Assim, a habilidade da placenta em facilitar a transferência materno-fetal de nutrientes, incluindo os AG, é de crucial importância para o adequado desenvolvimento do feto, que depende destes substratos, derivados da circulação materna (LARQUÉ; RUIZ-PALACIOS; KOLETZKO, 2013). Difusão passiva explica parte da transferência placentária de nutrientes, no entanto, como o requerimento fetal é bastante elevado, esse mecanismo, exclusivamente, não consegue suprir a demanda. Consequentemente, carreadores específicos, denominados proteínas de transporte, localizam-se na placenta e agem facilitando esta transferência, atendendo às crescentes necessidades do feto, principalmente no último trimestre da gestação (ALDORETTA; HAY, 1995; GIL-SANCHEZ; KOLETZKO; LARQUE, 2012).

Adequada constituição da placenta representa processo essencial para o apropriado desenvolvimento fetal. Má-formação, assim como enfermidades deste órgão, comprometem a capacidade de transferência adequada dos nutrientes e ambas as situações estão associadas aos casos de restrição de crescimento intrauterino (RCIU), caracterizados pela incapacidade do feto em alcançar seu potencial de crescimento intraútero (VON BECKERATH et al., 2013).

Diferentes proteínas de membrana estão envolvidas na captação e transporte de AG pela placenta, incluindo, FABPpm (*plasma membrane fatty acid binding protein*), FAT (*fatty acid translocase*) e FATP 1-6 (*fatty acid transport proteins 1-6*) (DUTTA-ROY, 2009). Embora os mecanismos que regem a complexa interação entre estas proteínas ainda não estejam completamente compreendidos, tem sido sugerido que elas são responsáveis pelo transporte preferencial de AGPI-CL para o feto, ou seja, pela maior concentração de AGPI-CL encontrada na circulação fetal quando comparada à materna (HAGGARTY, 2010; JONES et al., 2013).

Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma-gama (PPARγ, *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*) constituem fatores de transcrição gênica que têm a capacidade de modular a expressão de diferentes proteínas, incluindo os transportadores

placentários de AG, em particular a FATP-1 (SCHAIFF et al., 2005). O PPARγ está relacionado com o metabolismo lipídico e o da glicose, entre outros processos (JAWERBAUM; CAPOBIANCO, 2011), de modo que possui grande importância para o desenvolvimento e funcionamento da placenta, incluindo o adequado transporte de nutrientes para feto (ABBOTT, 2009).

Há referências de que a expressão de alguns transportadores de nutrientes encontra-se reduzida na placenta de recém-nascidos com RCIU, comparativamente a de crianças com adequação de crescimento, bem como as proporções de AGPI-CL (AA e DHA) são menores no sangue de fetos com RCIU. Adicionalmente, os estoques de lipídios de neonatos nesta condição também são reduzidos (PERCY et al., 1991; CETIN et al., 2002).

Trabalho anterior, inserido no projeto intitulado "Transporte de ácidos graxos de cadeia longa em placentas de gestantes adolescentes e adultas na presença e ausência do crescimento intrauterino restrito (CIUR): estudo biomolecular", desenvolvido no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, ao qual o presente estudo também está vinculado, identificou maior expressão das proteínas transportadoras FATP (1, 2 e 4), FABPpm e FAT, e ainda FABP (*fatty acid-binding proteins*) (3 e 4), em placentas de gestantes de neonatos com RCIU (ASSUMPÇÃO, 2015). Nesse estudo, não foi investigado, entretanto, se a quantidade das proteínas traduzidas, a partir dos RNAm transcritos, também sofreu incremento, tampouco foram especulados possíveis mecanismos de regulação destes processos. Assim, nesta dissertação buscar-se-á estudar os mecanismos envolvidos no transporte de AGPI-CL para o feto, especialmente a função do PPARγ na provável ativação das FATP, nas placentas de gestantes adultas com e sem RCIU.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Restrição de crescimento intrauterino: conceito, prevalência, etiologia e consequências para o feto

A restrição de crescimento intrauterino ocorre quando o feto não alcança seu potencial de crescimento e está associada à elevada taxa de morbimortalidade fetal e neonatal. A situação constitui a principal causa de fetos pequenos para a idade gestacional (PIG), assim denominados quando apresentam peso abaixo do percentil 10, estimado por ultrassonografia. É importante apontar que alguns recém-nascidos PIG apresentam curva de crescimento com distribuição normal, sendo classificados como constitucionalmente pequenos (LAUSMAN et al., 2013). Portanto, distinguir fetos com RCIU daqueles PIG saudáveis, nem sempre constitui avaliação simples, já tendo sido recomendada a inclusão de medidas seriadas de biometria fetal, capaz de proporcionar possibilidade de classificação mais adequada (SÁ et al., 2009). A utilização dos percentis 5 ou 3, também aumenta a sensibilidade do diagnóstico. Independentemente do parâmetro de classificação empregado, a exatidão da idade gestacional é fundamental, devendo ser estabelecida por meio da data da última menstruação bem como por ecografia obstétrica precoce (MARSÁL, 2009).

O diagnóstico de RCIU estabelece-se, portanto, com base no peso relativo à idade gestacional, comparado às curvas de distribuição desta variável na população. Neste sentido, na medida em que o crescimento fetal pode ser influenciado por diferentes fatores, incluindo, raça, sexo, classe social, entre outros, é reconhecida a necessidade da definição de curvas-padrão populacionais específicas (RENISK, 2002). Recentemente, foi constituído o consórcio internacional multicêntrico denominado “INTERGROWTH-21st”, incumbido da construção de valores de referência, a partir de coortes selecionadas de populações de vários países, incluindo o Brasil (SILVEIRA et al., 2013).

A incidência de RCIU é influenciada por fatores de distintas naturezas, sendo mais elevada nos países ou regiões que apresentam indicadores de desenvolvimento socioeconômico e humano mais reduzidos (CETIN; MANDÒ; CALABRESE, 2013). Diferenças quanto ao critério de definição de RCIU bem como quanto às configurações das curvas de normalidade relativas ao peso para idade gestacional, também imprimem variações sobre a incidência desta condição (MANNING, 2000). De modo geral, pode-se afirmar que a

RCIU é um problema clínico comum, reconhecido em 7% a 15% das gestações (CETIN; ALVINO, 2009). No Brasil está estimada entre 10% e 15% (BRASIL, 2000).

Diferentes fatores de risco são reconhecidos para a RCIU, incluindo aqueles relacionados à gestante, ao feto bem como à placenta (Quadro 1). A desnutrição materna se destaca como o de maior ocorrência mundial (GACCIOLI et al., 2013). Transferência insuficiente de nutrientes e oxigênio através da placenta representa a principal causa do défict de crescimento fetal (SANKARAN; KYLE, 2009). Doenças como hipertensão arterial sistêmica, trombofilia, pré-eclâmpsia, lúpus eritematoso sistêmico, cardiopatias e outras enfermidades circulatórias, tendem a afetar o transporte placentário de nutrientes. O consumo de álcool, tabaco e outras drogas, durante a gestação, também está implicado entre as possíveis causas da RCIU. Adicionalmente, rubéola, hepatites, toxoplasmose, citomegalovírus e outras infecções maternas durante a gestação também podem interferir no desenvolvimento fetal. Ressalta-se, ainda, que síndromes e alterações cromossômicas também estão relacionadas à RCIU. De qualquer forma, em 40% dos casos nenhum fator de risco principal é identificado (VON BECKERATH et al., 2013).

Quadro 1. Principais fatores de risco para RCIU

Maternos	**Placentários**
Demográficos	Defeito na implantação da placenta
Sócioeconômicos	Disfunção placentária (pré-eclâmpsia, hemorragias, área reduzida)
Intergeração (baixo peso ao nascimento da mãe)	Infecção
Nutricionais/Desnutrição	**Fetais**
Doenças Crônicas	Desordens cromossomiais
Hipoxemia (altitudes elevadas)	Anomalias congênitas
Drogas	Infecção fetal
Restrição uterina	

Adaptado de Von Beckerath e colaboradores (2013).

Crianças com RCIU apresentam risco elevado de nascimento prematuro, asfixia, hipoglicemia, disfunção cardíaca, infecções e alteração na termorregulação. Além disso, está associada com atraso no desenvolvimento cognitivo e o estabelecimento, na vida adulta, de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, enfermidades cardiovasculares, entre outras doenças crônicas não transmissíveis (BARKER et al., 2006; LONGO et al., 2013). Recém-nascidos com RCIU podem apresentar danos neurológicos a curto e em longo prazo, evidentes a partir do segundo ano de vida da criança, persistindo a partir de então. Dentre as alterações já descritas, inclui-se a redução do volume hipocampal, relacionado às memórias, com prejuízos nas conecções neurais (SUNG; VOHR; OH, 1993; BATALLE et al., 2012).

2.2 Anatomia e desenvolvimento da placenta

A estrutura anatômica e funcional da placenta humana é singular, de modo que somente lhe é semelhante a placenta de certas espécies de primatas como, por exemplo, a do macaco rhesus (MYREN et al., 2007). Constitui órgão transitório que permite o crescimento e desenvolvimento do feto (CROSS, 2006). Formada pela aposição das membranas fetais justapostas ou em fusão com a mucosa uterina, proporciona trocas materno-fetal de nutrientes, gases e resíduos metabólicos.

Assim, o desenvolvimento placentário inicia com a implantação do blastocisto sob o epitélio uterino, conduzindo à diferenciação de linhagem de células do trofoblasto em estruturas embrionárias e extraembrionárias. Este processo acontece entre o sexto e sétimo dia após a concepção, tão logo os blastócitos iniciam a invasão do endométrio (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2013).

Pelo fim da primeira semana, o blastocisto está superficialmente implantado no revestimento endometrial do útero. Observa-se uma camada celular externa, o trofoblasto, que dará lugar à parte da placenta, e um grupo de células localizadas centralmente, o embrioblasto (massa celular interna), que dará origem ao embrião (BITSANIS et al., 2005). O trofoblasto diferencia-se, então, em dois tipos celulares, o citotrofoblasto e o sinciciotrofoblasto. Defeitos no processo de diferenciação das células trofoblásticas acarretam alterações das funções da placenta, que podem causar complicações na gestação, tais como, nascimento pré-termo, RCIU e pré-eclâmpsia (JAUNIAUX; VAN OPPENRAAIJ; BURTON, 2010; JOHN; HEMBERGER, 2012).

O trofoblasto invade, ativamente, o estroma endometrial que contém capilares e glândulas, e o blastocisto aprofunda-se lentamente no endométrio. As células trofoblásticas emitem projeções que se transformam nas vilosidades placentárias (FOWDEN et al., 2008). Pequenos espaços surgem entre o trofoblasto e a massa celular interna. Estes espaços reunem-se para formar a cavidade amniótica. A massa celular diferencia-se então, formando o disco embrionário, constituído de epiblasto e hipoblasto. A cavidade amniótica aumenta, formando o âmnio. A união dos vasos uterinos com as lacunas que surgem no sinciciotrofoblasto representa o início da circulação intraplacentária (Figura 1).

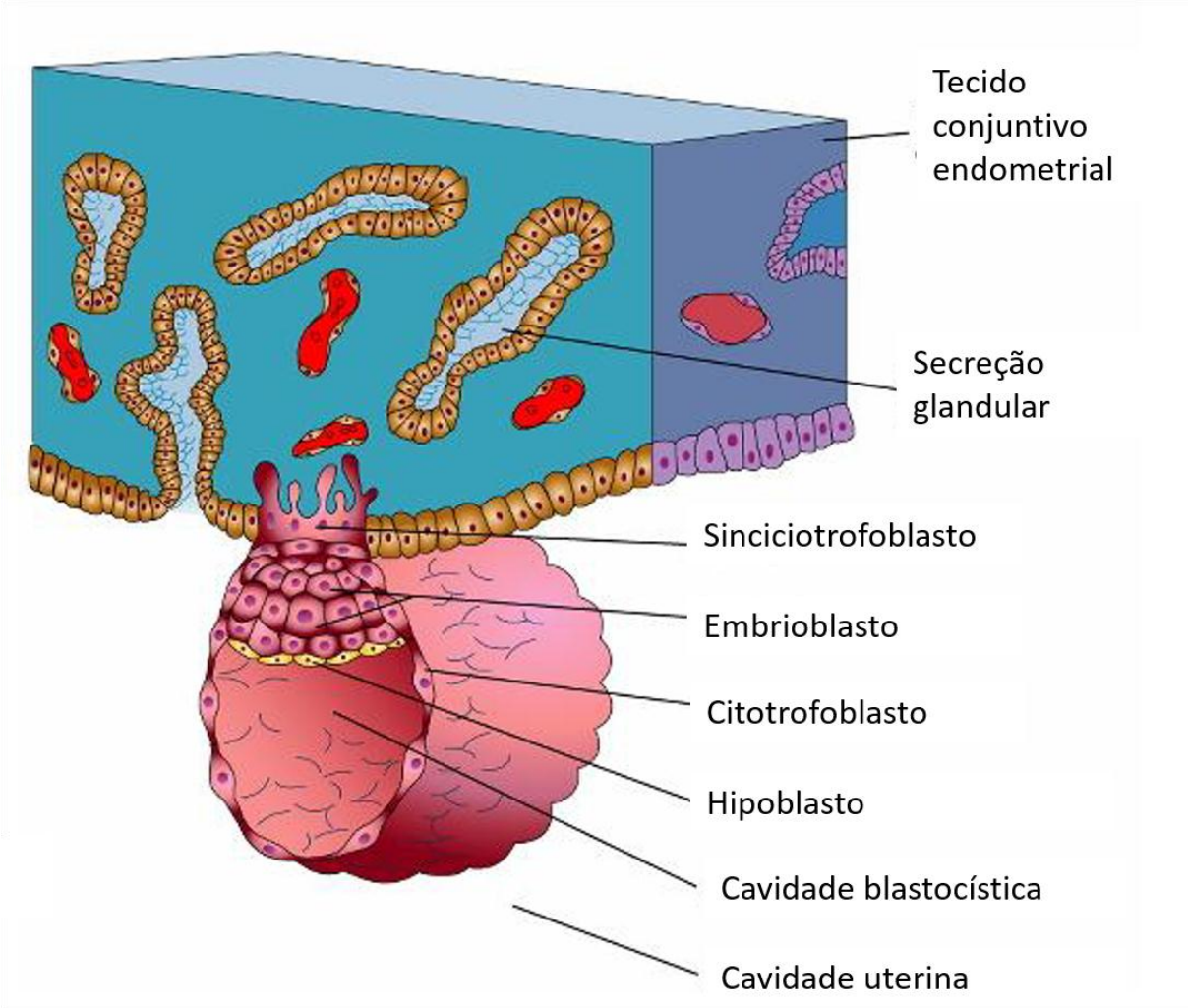

Figura 1. Representação esquemática do início da implantação da placenta.
Adaptado de Strickland e Richards (1992).

A placenta humana é do tipo hemocorial, caracterizada pelo fato de que o sangue materno alcança o espaço interviloso, via artérias espirais, fluindo diretamente entre os vilos terminais. Vilos e microvilos constituem áreas de maior contato, fornecendo extensa superfície para intercâmbio. A maior parte das trocas entre a mãe e o feto se dá por meio das numerosas vilosidades ramificadas, que saem das vilosidades-tronco (CROSS, 2006). Capilares fetais e maternos da placenta, muitas vezes, ultrapassam o tecido conjuntivo e permeiam as coberturas epiteliais. Os vasos sanguíneos formam extenso sistema arteriocapilar venoso dentro das vilosidades coriônicas, que aproxima muito o sangue fetal do sangue materno. Este sistema proporciona grande área para a troca de produtos metabólicos e gasosos entre a corrente sanguínea materna e fetal, de modo que o sangue fetal, pouco oxigenado, flui através de duas artérias umbilicais e retorna bem oxigenado pela veia umbilical. No entanto, o sangue da mãe flui das artérias uterinas e retorna para as veias uterinas. Assim, ambos os fluidos podem atingir íntima relação espacial, apesar do número variado de camadas intervenientes (JANSSON; POWELL, 2007) (Figura 2).

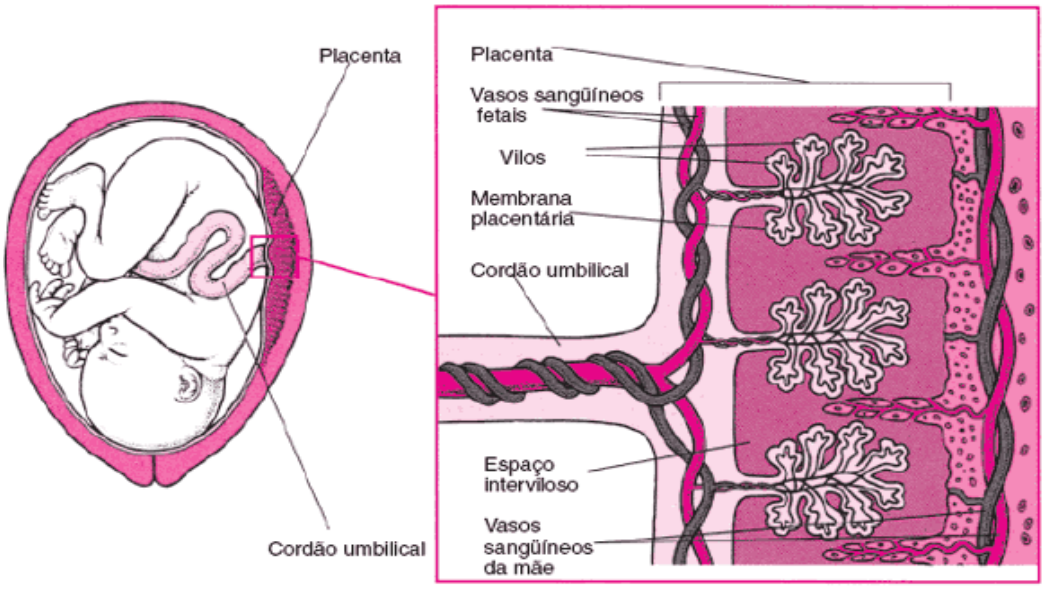

Figura 2. Representação esquemática da estrutura da placenta.
Adaptado de Jansson e Powell (2007).

Após o quarto mês de gestação, a placenta está completamente formada. No feto a termo, sua massa corresponde, aproximadamente, a 500g, apresenta forma discoidal, com 20 cm de diâmetro por 3 cm de espessura (MYREN et al., 2007).

2.3 Funções da placenta

A principal função da placenta é atuar como sistema transportador de nutrientes, gases e resíduos metabólicos entre o organismo materno e o fetal. O tecido funciona como substituto dos pulmões (trocas gasosas), intestinos (captação de nutrientes) e rins (regulação de volume urinário e eliminação de metabólitos desnecessários) do feto até que esses órgãos estejam totalmente desenvolvidos e possam desempenhar essas ações por conta própria. Aminoácidos, glicose, AG, vitaminas, minerais, água e oxigênio são transportados para o feto através da placenta, enquanto dióxido de carbono e ureia alcançam o organismo materno, oriundos do feto (GACCIOLI et al., 2013). Este órgão também produz uma variedade de hormônios, que influencia o metabolismo materno e regula o crescimento e desenvolvimento fetal (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2013). Outras funções da placenta incluem ativo metabolismo energético para dar sustentação as suas próprias necessidades energéticas, modificação de nutrientes em estruturas mais simples para provimento ao feto, manutenção de barreira imunológica, transferência de calor e desintoxicação de xenobióticos (JANSSON; POWELL, 2000).

O transporte placentário de nutrientes para o feto representa função primordial deste órgão. Prejuízos neste processo, observados, por exemplo, nas situações de insuficiência placentária, podem determinar maior susceptibilidade do indivíduo desenvolver doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial sistêmica, entre outras (GLUCKMAN et al., 2008; SYMONDS et al., 2009).

Para alcançar a circulação fetal, nutrientes e outros compostos, presentes na circulação materna, necessitam transpor duas camadas de células localizadas nos vilos placentários. Constituída por epitélio multinucleado, proveniente da fusão dos trofoblastos mononucleares, o sinciciotrofoblasto forma a camada que está em contato com a circulação materna. Este epitélio apresenta duas membranas polarizadas, denominadas, membrana microvilosa, em contato direto com a circulação materna, e membrana basal, em contato com os capilares fetais. A outra camada de células, em contato direto com o fluxo sanguíneo do feto, é conhecida como epitélio endotelial fetal (LAGER; POWELL, 2012) (Figura 3).

Uma vez que somente substratos de reduzido peso molecular conseguem atravessar as membranas microvilosa e basal, o sinciciotrofoblasto dispõe de transportadores específicos de nutrientes (Figura 3).

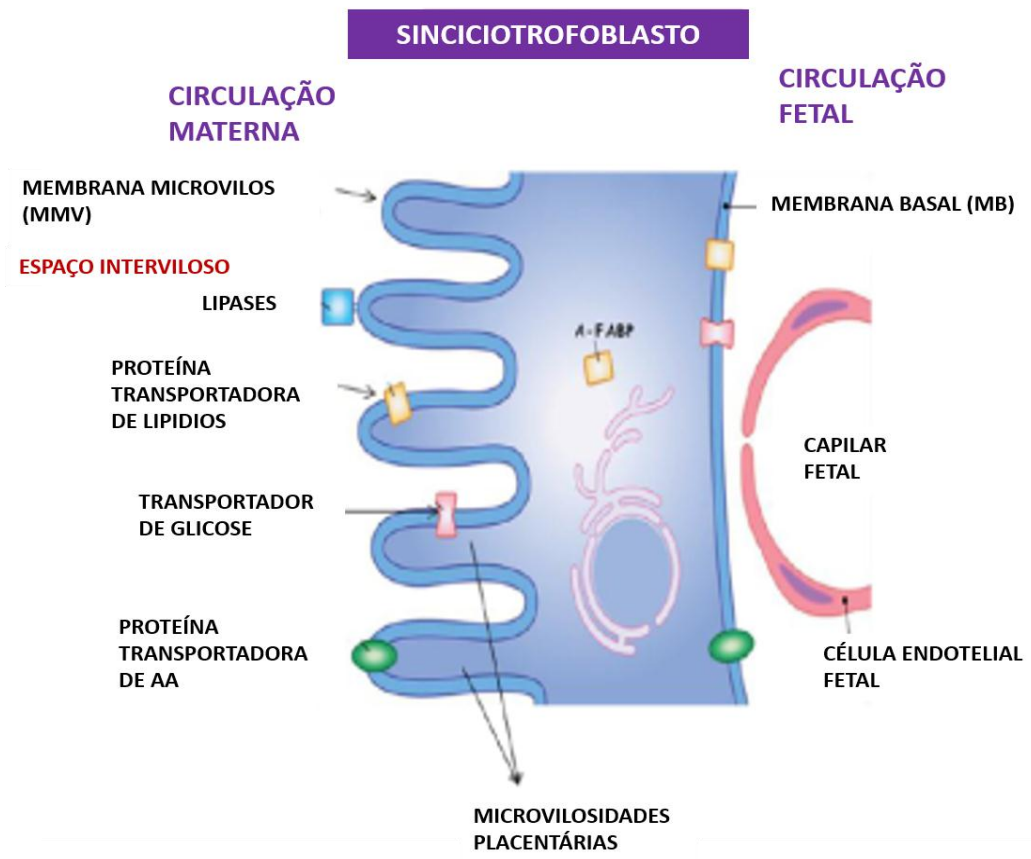

Figura 3. **Esquema da estrutura e função do sinciciotrofoblasto**. O sinciciotrofoblasto constitui a camada exterior de várias estruturas individuais de vilosidades dentro da placenta. Esse epitélio mantém a circulação materna e fetal separadas, enquanto permite a troca de nutrientes. O sangue materno circula no espaço interviloso e está em contato com a membrana microvilosa (MVM). A membrana basal (MB) do sinciciotrofoblasto está em contato com as células endoteliais fetais. Transportadores de aminoácidos, glicose e ácidos graxos são expressos em ambas as membranas. Lipases hidrolisam ácidos graxos para captação por proteínas transportadoras específicas.
Adaptado de Lager e Powell (2012).

A regulação da expressão e atividade destes transportadores pode ser influenciada por diferentes fatores, incluindo enfermidades como diabetes gestacional e síndromes hipertensivas da gestação, o que pode comprometer a transferência de nutrientes para o feto e, consequentemente, seu adequado crescimento (LAGER; POWELL, 2012). Adicionalmente, outras condições maternas, incluindo inadequações na massa corporal pré-gestacional e ganho de peso durante a gestação, além de enfermidades crônicas pré-existentes, não controladas, também podem afetar a estrutura e fisiología placentária, prejudicando a transferência de nutrientes para o feto (CHERNYAVSKY et al., 2011).

Assim, o suprimento de nutrientes para o feto através da placenta dependente de diferentes fatores relacionados a este órgão, entre eles, seu tamanho e morfologia, fluxo sanguíneo, taxa de consumo, síntese e expressão de proteínas transportadoras específicas de

nutrientes nas membranas do sinciciotrofoblasto (JANSSON; MYATT; POWELL, 2009). Entretanto, estes fatores, sensíveis às mudanças ambientais, de origem materna e/ou fetal, podem sofrer alterações no decorrer do desenvolvimento (FOWDEN et al., 2008), capazes de afetar o crescimento fetal e comprometer a viabilidade e bem-estar do recém-nascido (THAME, 2004; FOWDEN et al., 2006; JONES; POWELL; JANSSON, 2007).

2.4 Alterações placentárias em RCIU

A função placentária é fundamental para o crescimento fetal. Assim, a insuficiência vascular placentária, causando hipoxia do órgão, é causa importante de restrição do crescimento intrauterino. Esta insuficiência é também referida como hipóxia placentária (NEERHOF; THAETE, 2008). Nesta situação, a morfologia também se apresenta alterada, com vilos terminais menores e anômalos e modificação no padrão de capilarização, justificando, possivelmente, o deficiente transporte de gases e o risco de hipóxia e acidose fetal (MOREIRA NETO; MARTINS CÓRDOBA; PERAÇOLI, 2011).

Modificações nas taxas de proliferação do citotrofoblasto também têm sido relatadas assim como no número de núcleos do sinciciotrofoblasto. A velocidade do fluxo sanguíneo da artéria umbilical diastólica também é anormal. Atualmente a literatura enfatiza a importância de inúmeros fatores que alteram a fisiologia placentária, tais como hormônios e fatores de crescimento, importantes para os processos angiogênicos e, consequentemente, para o desenvolvimento vascular placentário (GACCIOLI et al., 2013).

Neste contexto, as alterações no ambiente micro-anatômico da placenta, verificadas na RCIU, que incluem modificações na vascularização dos vilos, desequilíbrio de moléculas bioativas e aumento do estresse oxidativo, comprometem o transporte de nutrientes (CETIN; ALVINO, 2009). Entretanto, mesmo nesta situação, é reconhecida a capacidade adaptativa da placenta, que desenvolve mecanismos destinados a otimizar o fluxo de nutrientes e gases, potencializando o crescimento fetal e a viabilidade ao nascimento (SANDOVICI et al., 2012).

2.5 Importância dos ácidos graxos essenciais (AGE) e seus derivados de cadeia longa no crescimento fetal

A captação placentária de AG é essencial para o crescimento e desenvolvimento da unidade feto-placentária (DUTTA-ROY, 2009). Durante o último trimestre da gestação, o feto acumula grande quantidade de lipídios e os ácidos graxos livres são os principais tipos de

lipídios que são transferidos ao feto, via placenta (HERRERA, 2002). Entretanto, observa-se na circulação fetal, maior conteúdo de AGPI-CL, em relação à circulação materna (CETIN; ALVINO, 2009).

Ácidos graxos representam importantes constituintes da dieta humana e são derivados tanto de fontes lipídicas animais como vegetais (SCHMITZ; ECKER 2008). Estes compostos energéticos são componentes de fosfolipídios e glicolipídios, estocados intracelularmente como triacilglicerois (predominantemente nos adipócitos) e são moléculas precursoras de mensageiros intracelulares e hormônios. Os AGE, linoleico (LA, 18:2 n-6) e alfa-linolênico (ALA, 18:3 n-3), e seus derivados de cadeia longa, vêm sendo referidos como determinantes do crescimento e desenvolvimento do feto (INNIS, 2007). Entretanto, em razão da ausência das enzimas delta-15 e delta-12 dessaturases, estes AG não podem ser sintetizados nos tecidos dos mamíferos. Sendo assim, devem ser obtidos por meio da ingestão de alimentos que contenham essas estruturas pré-formadas (CALDER, 2001; INNIS, 2003). Tanto LA quanto ALA podem ser dessaturados e alongados, por meio de ação de outras dessaturases (delta-5 e delta-6) e elongases, expressas em vários tecidos, com maior atividade no tecido hepático, formando AG mais insaturados e de cadeia mais longa, denominados AGPI-CL. Ácido linoleico é convertido ao AA e o ácido alfa-linolênico ao ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) e ao DHA (INNIS, 2005). Estes AG são constituíntes das membranas celulares e exercem ações essenciais relacionadas a sua fluidez, permeabilidade e integridade (INNIS, 2003) (Figura 4).

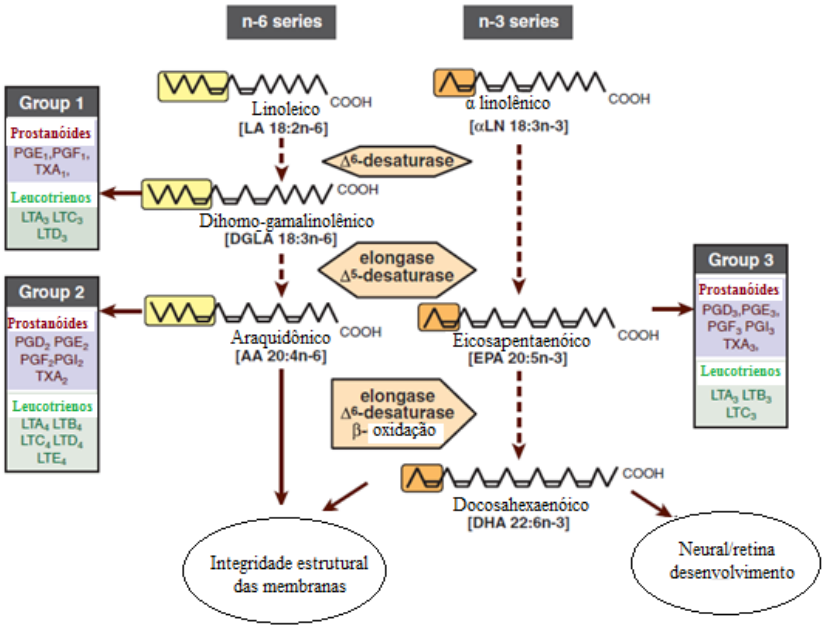

Figura 4. Metabolismo dos ácidos graxos das séries n-6 e n-3.
Adaptado de Haggarty (2010).

Enquanto o AA é reconhecido como essencial para o crescimento fetal (HEIRD; LAPILLONNE, 2005), o DHA apresenta importante função na formação, desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, durante o período gestacional e nos primeiros anos de vida. Dentre os AGPI-CL n-3, o DHA é o mais abundante no sistema nervoso central de mamíferos e se concentra, em especial, nos fosfolipídios das membranas da massa cinzenta cerebral e dos componentes visuais da retina (INNIS, 2008). Destaca-se que os AGPI-CL acumulados pelo feto são, em grande parte, provenientes da transferência placentária, posto que a habilidade do concepto, assim como da placenta, em dessaturar e elongar AG é limitada (CUNNINGHAM; McDERMOTT, 2009; HAGGARTY, 2010). Neste sentido, adequado suprimento fetal de AGPI-CL depende de provisão materna (DUTTA-ROY, 2009). Jones e colaboradores (2013) verificaram que os teores de AGPI-CL placentários e fetais estavam positivamente correlacionados com o conteúdo sérico materno destes AG durante a gestação. Além disso, o acúmulo fetal de DHA aumenta durante o terceiro trimestre da gestação, quando atinge o seu pico, de modo a garantir o rápido crescimento cerebral do feto (DUTTA-ROY 2009). Van Eijsden e colaboradores (2008) verificaram associação positiva entre peso ao nascer e concentração de AGPI-CL n-3 do plasma materno no início da gestação. Estes autores sugeriram que as dimensões do neonato podem ser otimizadas pela ingestão materna de AGPI-CL durante a gestação.

Além de atuar no crescimento e desenvolvimento fetal, AGPI-CL são precursores de prostaglandinas e eicosanoides, mediadores que atuam no processo inflamatório. Eicosanoides formados a partir do AA são de natureza pró-inflamatória, enquanto os formados a partir do DHA são apontados como anti-inflamatórios (CALDER, 2003). A gestação pode ser considerada situação de inflamação controlada, pois determina presença de teores mais elevados de mediadores pró-inflamatórios, frente aos valores observados em mulheres não gestantes (RUSTERHOLZ; HAHN; HOLZGREVE, 2007).

Os AGPI-CL também podem regular a expressão gênica ao modular diferentes fatores de transcrição. Tanto AGPI-CL n-3 como n-6 são capazes de se ligar aos fatores de transcrição como PPAR e SREBP-1 os quais controlam vários genes que sinalizam processos inflamatórios e enzimas associadas ao metabolismo lipídico (DUTTA-ROY, 2009).

2.6 A placenta no transporte específico de ácidos graxos

A capacidade da placenta de extrair AGE e AGPI-CL da circulação materna e transportar estas moléculas lipídicas para o sangue fetal é fundamental para o adequado desenvolvimento do feto (HANEBUTT et al., 2008). Parte da transferência placentária de nutrientes ocorre por difusão passiva, entretanto, esse mecanismo não supre a elevada demanda fetal. Desta forma, carreadores específicos de nutrientes, denominados proteínas de transporte, estão presentes na placenta, e agem facilitando essa transferência, atendendo às crescentes necessidades do feto, principalmente no último trimestre da gestação (ALDORETTA; HAY, 1995).

Para o transporte através da membrana dos microvilos do sinciciotrofoblasto da placenta, AG precisam estar em sua forma não esterificada (ácidos graxos não esterificados, AGNE) (HANEBUTT et al., 2008). Na circulação materna, a maior parte dos AG que é transportada para o feto, circula na forma de triacilglicerois, em partículas de lipoproteínas (HERRERA, 2002). Triacilglicerois não podem atravessar diretamente a barreira placentária e, consequentemente, um complexo sistema de transporte placentário encontra-se bem desenvolvido (GIL-SANCHEZ; KOLETZKO; LARQUE, 2012). Este sistema envolve vários receptores e enzimas, tais como, o receptor de LDL (*low density lipoprotein*, lipoproteína de baixa densidade), receptores de VLDL (*very low density lipoprotein*, lipoproteína de muito baixa densidade)/apoproteína E, LPL (*lipoprotein lipase*, lipoproteína lipase) placentária, fosfolipase A2 placentária e lipases intracelulares (INNIS, 2003; DUTTA-ROY, 2009; GIL-SANCHEZ; KOLETZKO; LARQUE, 2012). Alterações na atividade da LPL placentária e na

expressão da proteína do receptor LDL são associadas com RCIU (TABANO et al., 2006), indicando que o sistema de transporte de lipídios placentários é crucial para o adequado crescimento fetal.

No interior da placenta, ácidos graxos livres são transportados através dos trofoblastos por meio de difusão ou transporte ativo (HANEBUTT et al., 2008). Adicionalmente, tem sido descrito a existência um complexo sistema de transporte de AG, compreendendo inúmeras proteínas de membrana e citoplasmáticas, responsáveis também por metabolizar AG no próprio tecido placentário (DUTTA-ROY, 2000). Entre as estrututuras proteicas já identificadas, incluem-se, as proteínas ligadoras de ácidos graxos das membranas plasmáticas placentárias *(placental plasma membrane fatty acid binding proteins,* pFABPpm), expressas exclusivamente na membrana microvilosa, que está voltada para a circulação materna (CAMPBELL et al., 1998; DUTTA-ROY, 2009; LAGER; POWELL, 2012); as ácidos graxos translocases (*fatty acid translocases,* FAT), também denominadas CD36, que são proteínas glicosiladas, presentes nas membranas microvilosa e basal do sinciciotrofoblasto (DUBÉ et al., 2012) e a família das proteínas transportadoras de ácidos graxos (*fatty acid transport proteins*, FATP), composta por seis isoformas (FATP-1 a FATP-6), das quais cinco são expressas na placenta humana (DUTTA-ROY, 2009).

FATP-1 foi identificada nas duas membranas do sinciciotrofoblasto (microvilosa e basal), não sendo conhecida a localização das demais isoformas (LAGER; POWELL, 2012). Entretanto, diferentes autores referem que todas as isoformas das FATP estão presentes em ambas as regiões da placenta, assim como a FAT/CD36 (CAMPBELL; DUTTA-ROY, 1995; CAMPBELL et al., 1998; DUTTA-ROY, 2009; GIL-SÁNCHEZ; KOLETZKO; LARQUÉ, 2012) (Figura 5).

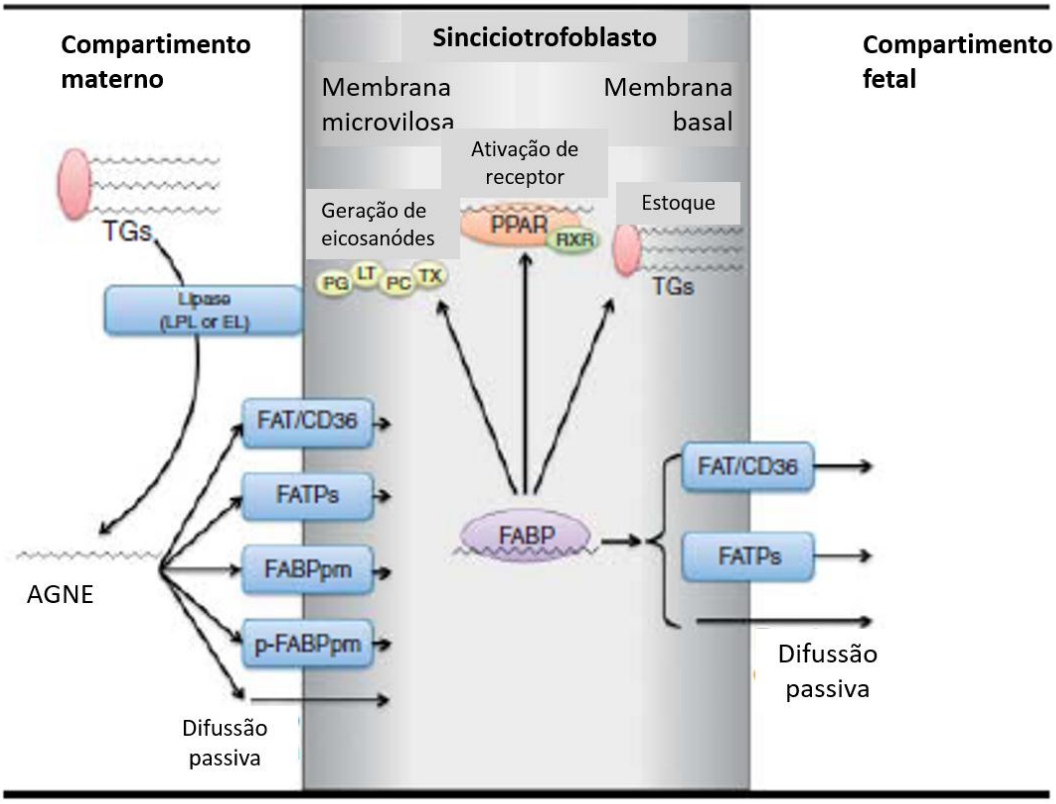

Figura 5. Representação esquemática dos mecanismos de transporte placentário de ácidos graxos e seus potenciais destinos metabólicos na placenta. TG: triglicerídios; LPL: lipase lipoproteica; EL: lipase epitelial; AGNE: ácidos graxos não esterificados; FAT/CD36: ácido graxo translocase; FATPs: proteínas transportadoras de ácidos graxos; FABP: proteína ligadora de ácidos graxos; FABPpm: FABP de membrana plasmática; p-FABPpm: FABP de membrana plasmática placentária; PG: prostaglandina; LT: leucotrieno; PC: prostaciclina; TX: tromboxano; PPAR: receptor ativado por proliferadores de peroxissoma; RXR: receptor de ácido retinoico.
Adaptado de Hanebutt e colaboradores (2008).

Após captação, os AG alcançam o citoplasma e se associam às proteínas de ligação de ácidos graxos (*fatty acids binding proteins*, FABP). Estas proteínas de ligação intracelular parecem ser responsáveis pela translocação citoplasmática dos AGNE, direcionando-os para sítios específicos onde podem ser esterificados, beta-oxidados ou transferidos para a circulação fetal (DUTTA-ROY, 2009). Adicionalmente, FABP também podem se ligar, de maneira específica, aos fatores de transcrição nuclear como, por exemplo, o PPAR, no núcleo da célula (STORCH; CORSICO, 2008). Foram identificadas cinco isoformas na placenta humana: FABP-1, FAPB-3, FABP-4, FABP-5 e FABP-7 (CUNNINGHAM; McDERMOTT, 2009) (Figura 6).

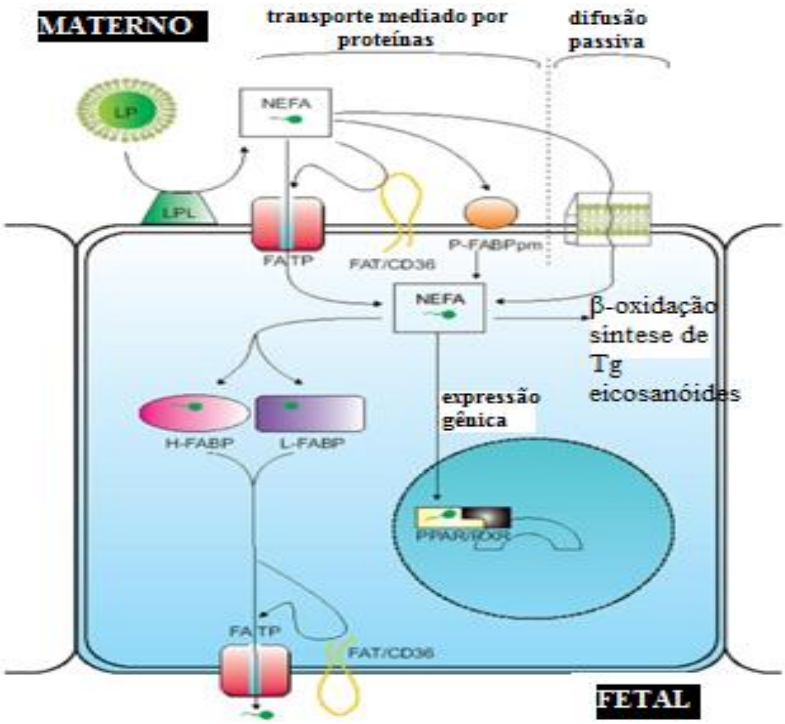

Figura 6. **Modelo de transporte placentário de ácidos graxos**. NEFA: ácidos graxos não esterificados; Tg: triacilglicerois; LP: lipoproteína; LPL: lipase lipoproteica; H-FABP: FABP-3; L- FABP: FABP-1. Adaptado de Hanebutt e colaboradores (2008).

Deste modo, AGNE podem ser oxidados nos trofoblastos ou reesterificados e armazenados, como triacilglicerois e outras frações lipídicas, nas células placentárias. Da mesma maneira que em outras células, concentrações aumentadas de AGNE são tóxicas e, para evitar essa toxicidade, estes ácidos graxos livres, se ligam ao glicerol e são armazenados em gotículas de lipídios, podendo ocorrer lipólise posterior, por ação de hidrolases (LARQUÉ et al., 2006a). Na placenta, este processo metabólico pode afetar a taxa de AG que é transferida para o feto (GIL-SÁNCHEZ; KOLETZKO; LARQUÉ, 2012).

Embora as funções das proteínas de membrana da placenta, na captação e metabolismo de AG bem como no processo de transferência destes nutrientes para o feto, não estejam completamente esclarecidas, tem sido sugerido que a presença de AGPI-CL na circulação fetal pode estar relacionada à interação destes ácidos graxos de cadeia longa com alguns transportadores específicos, como a FABPpm (CAMPBELL; DUTTA-ROY, 1995; LARQUÉ et al., 2006b) e a FATP-4 (LARQUÉ et al., 2006a). Assim, essas proteínas, seriam responsáveis pelo transporte preferencial de AGPI-CL para o feto, justificando a maior concentração destes AG na circulação fetal, quando comparada à materna (DUTTA-ROY, 2009).

Haggarty (2002) encontrou transporte preferencial seletivo para o DHA, sugerindo a seguinte ordem de preferência: DHA>AA>ALA>LA. Larqué e colaboradores (2003) investigaram a razão da concentração de diferentes AG na placenta e no plasma materno, encontrando valor significativamente maior para o DHA, em relação aos outros AG avaliados (linoleico, oleico e palmítico), indicando transferência placentária preferencial de AGPI-CL. Entretanto, Dutta-Roy (2009), em seu estudo de revisão, sugeriu ordenação seletiva preferencial de AG diferente: AA>LA>ALA>oleico.

Gil-Sánchez, Koletzko e Larqué (2012) ratificaram o reconhecimento de que ocorre transferência placentária-fetal preferencial de AGPI-CL, tendo apontado existir maiores concentrações destes AG nos lipídios do sangue do cordão umbilical comparadas às do sangue materno, embora a proporção de AGE do neonato seja inferior à materna. Esta transferência seletiva de AGPI-CL para a circulação fetal destaca a função da placenta no transporte preferencial destes compostos para o feto.

De outro modo, esterificação seletiva de AGPI-CL, também já foi sugerida como outro possível mecanismo responsável por acúmulo preferencial destes lipídios de cadeia longa na circulação fetal, dado que a placenta não pode captar os AGNE (KUHN; CRAWFORD, 1986).

Larqué e colaboradores (2006a) observaram que a suplementação de DHA, durante a segunda metade da gestação, resultou em significativa incorporação deste AGPI-CL nos fosfolipídios da placenta, avaliada por ocasião do parto. Adicionalmente, os autores identificaram correlação positiva e significativa entre a proporção de DHA e EPA nos fosfolipídios da placenta e a expressão de RNAm das proteínas FATP-1 e FATP-4, assim como entre o DHA nos triacilglicerois da placenta e as FATP-1, FATP-4, FABPpm e FAT. A expressão da FATP-4 também apresentou correlação positiva com o percentual de DHA nos fosfolipídios do plasma do cordão umbilical. Foi observado, ainda, que o elevado percentual de EPA e DHA nos fosfolipídios do plasma materno produziu aumento na expressão de FATP-1 e FATP-4 na placenta. Esses achados corroboram o reconhecimento da importância dessas proteínas no transporte seletivo de AG do tecido placentário.

2.7 PPARγ, placenta e desenvolvimento fetal

Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma pertencem a um grupo de proteínas receptoras que funcionam como fatores de transcrição moduladores da expressão gênica. Apresentam estrutura similar aos receptores de hormônios tireoidianos e esteroides e

compreendem três isoformas, denominadas PPARα, PPARγ, e PPARβ/δ. Estes receptores são expressos em diferentes tecidos, possuindo distintas funções na regulação do metabolismo (LAZAR, 2005).

Proteínas nucleares que atuam como ativadores ou repressores da transcrição gênica interagem com o PPAR. Após conexão a um ligante na célula, o PPAR forma um heterodímero com o receptor retinoide X (*retinoid X receptor*, RXR), podendo, assim, regular a transcrição de genes. PPARγ é conhecido por regular a diferenciação de adipócitos, estoque e metabolismo de AG, metabolismo da glicose e controle da inflamação, além de estar associado à obesidade (Figura 7).

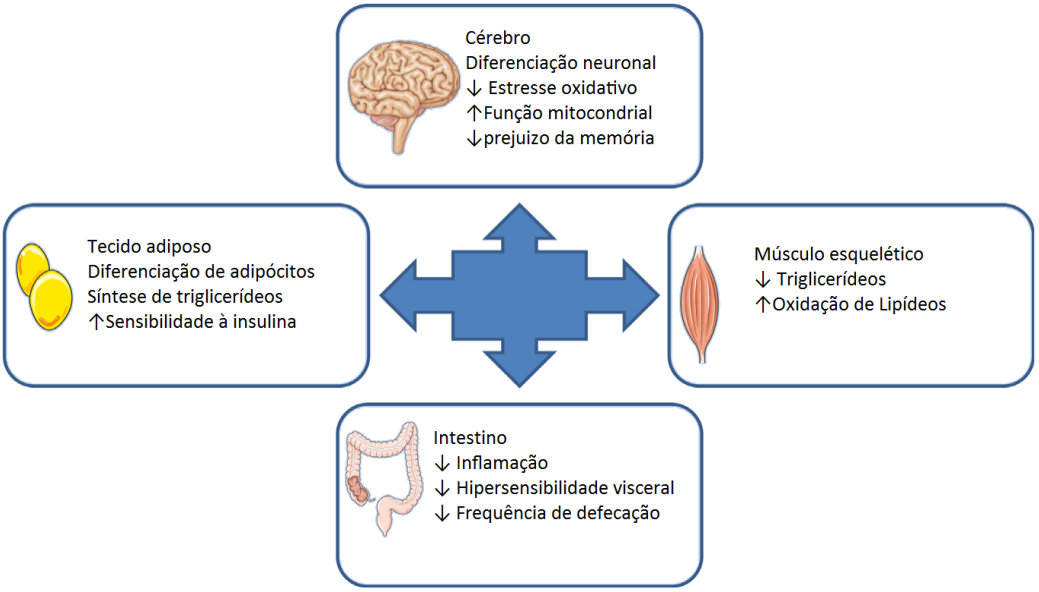

Figura 7. Funções do PPARγ (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*).
Adaptado de Marion-Letellier, Savoye e Ghosh (2015).

Diferentemente de outros receptores nucleares, o PPARγ possui inúmeros ligantes, entre os quais se destacam AG poli-insaturados e seus derivados de cadeia longa, como EPA e DHA. Diferentes estudos demonstraram ação de AGPI-CL na regulação da atividade inflamatória, por meio de ativação do receptor PPARγ. Adicionalmente, PPARγ também está implicado na regulação da sensibilidade à insulina sistêmica (ZEGHARI et al., 2000, JAWERBAUM; CAPOBIANCO, 2011).

Alguns estudos *in vitro* têm demonstrado envolvimento da via de sinalização PPARγ/RXRα na regulação de transportadores de AG (SCHAIFF; BARAK; SADOVSKY, 2006; MISHIMA et al., 2011). Outras investigações, envolvendo enfermidades crônicas como

diabetes mellitus tipo 2 e obesidade, mostraram diminuição na expressão de PPARγ em diferentes tecidos periféricos, o que poderia estar relacionado às alterações observadas no transporte lipídico (CATALANO et al., 2002; HOLDSWORTH-CARSON et al., 2010; LAPPAS, 2014) (Figura 8).

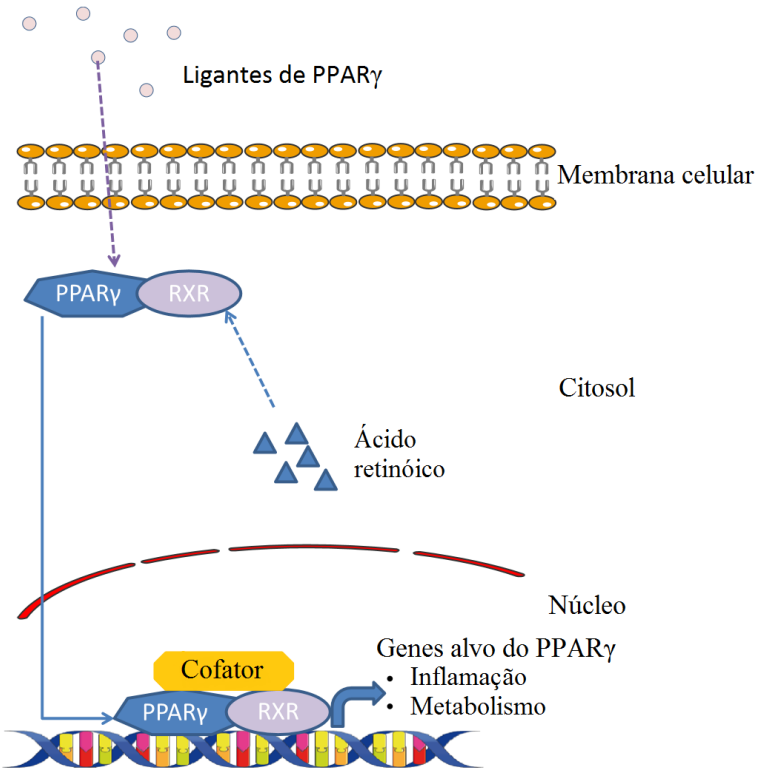

Figura 8. Cascata de sinalização do PPARγ. O PPARγ pode ser ativado por inúmeros ligantes, naturais ou sintéticos. Após conecção ao ligante, o PPARγ forma um heterodímero com o *retinoid X receptor* (RXR). O heterodímero então recruta cofatores e se aclopa à região do gene promotor, *peroxisome proliferator response element* (PPRE), levando à regulação da expressão de genes que estão envolvidos no metabolismo da glicose e dos lipídios e no controle da inflamação.
Adaptado de Marion- Marion-Letellier, Savoye e Ghosh (2015).

As três isoformas de PPAR são expressas na placenta, embora PPARγ apresente expressão mais elevada (FOURNIER et al., 2007). Sob ativação por AGPI-CL, e seus metabólitos, estes receptores nucleares regulam a expressão das proteínas transportadoras de AG da placenta (BILDIRICI et al., 2003; MATSUDA; KOBAYASHI; KITAGISHI, 2013). Neste contexto, há referência acerca do aumento da expressão de FATP-1 e FATP-4, consequente à ativação por PPARγ (SCHAIFF et al., 2005).

Cabe ressaltar que, além do PPARγ, outras moléculas também podem regular a expressão e a atividade dos transportadores de AG na placenta, incluindo, o fator de

crescimento semelhante à insulina tipo 1 (*Insulin-like growth factor 1*, IGF-1) e hormônios como a leptina, bem como algumas citocinas como a interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (*tumor necrosis fator alpha*, TNFα) (MAGNUSSON-OLSON et al., 2006; LAGER et al., 2011; MISHIMA et al., 2011; MOUSIOLIS et al., 2012).

Adicionalmente ao envolvimento na regulação da expressão das proteínas transportadoras de AG, PPARγ está associado ao desenvolvimento e metabolismo da placenta. A deleção deste receptor, em ratos, causou morte embrionária, assim como má formação da placenta, devido a defeitos na diferenciação dos trofoblastos e má vascularização da região (BARAK et al., 1999), sinalizando a importância do PPARγ na diferenciação das estruturas placentárias bem como seu desenvolvimento. Em humanos, PPARγ encontra-se expresso predominantemente nos trofoblastos (SCHAIFF et al., 2000; RODIE et al., 2005), já tendo sido descrita associação do receptor com a prevenção de nascimentos prematuros (Figura 9).

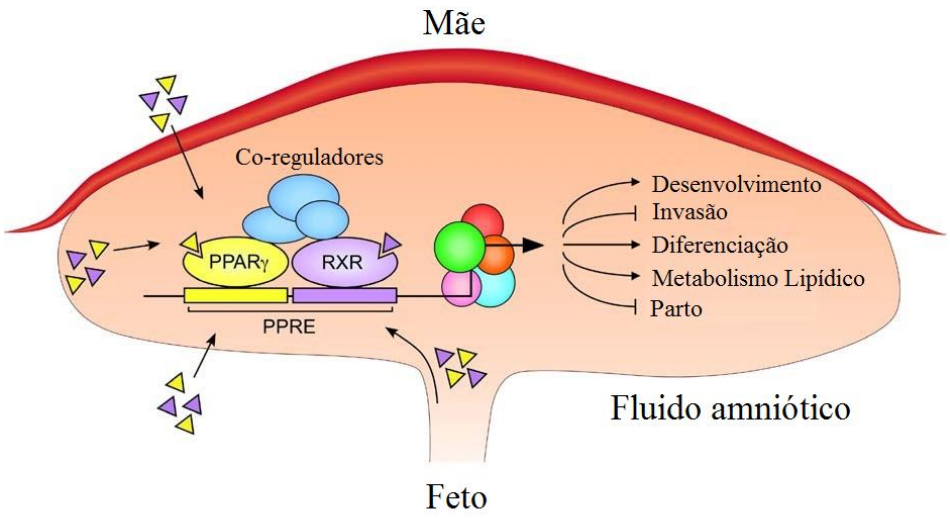

Figura 9. Funções do PPARγ na placenta. RXR: *retinoid X receptor;* PPRE: *peroxisome proliferator response element*; PPARγ: *peroxisome proliferator-activated receptor gamma.* Adaptado de Schaiff, Barak e Sadovsky (2006).

Função adicional, atribuída ao PPARγ, durante a vida intrauterina, diz respeito a sua participação na adipogênese, iniciada entre a décima quarta/décima quinta semanas gestacionais (AILHAUD; GRIMALDI; NÉGREL, 1992; ROSEN; MACDOUGALD, 2006). O processo envolve uma cascata de ativação de genes que têm como um dos principais reguladores o PPARγ (ROSEN et al., 1999; TONTONOZ; SPIEGELMAN, 2008). Há referência acerca da atuação de AGPI-CL em pré-adipocitos, regulando a expressão de genes

relacionados ao metabolismo lipídico, incluindo a transcrição de PPAR e, assim, promovendo adipogênese (XU et al., 1999). Outras evidências, obtidas de estudos envolvendo animais e humanos, sugerem que mudanças na razão n-6:n-3 dos AG dietéticos favorecem alterações das fases iniciais do desenvolvimento do tecido adiposo durante a vida intrauterina, e assim, influenciam o crescimento somático fetal (KEMP, 2010; IMHOFF-KUNSCH et al., 2012).

São escassos os estudos que tenham investigado a expressão do PPARγ em situação de RCIU. Holdsworth-Carson e colaboradores (2010) avaliaram a expressão gênica e quantificaram diferentes isoformas de PPAR na placenta de mulheres que desenvolveram diabetes gestacional, pré-eclâmpsia e RCIU. Os autores verificaram aumento da atividade do PPARγ e da expressão de PPAR:RXR em RCIU, na presença e ausência de pré-eclâmpsia.

O conjunto destes achados sugere inequívoco envolvimento do PPAR na tradução dos estímulos nutricionais, em resposta modulatória das vias de expressão gênica, envolvidas no desenvolvimento da placenta e crescimento fetal.

3 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Os mecanismos moleculares e regulatórios responsáveis pela concentração seletiva de AGPI-CL no sangue fetal, em relação ao sangue materno, não estão esclarecidos. FATP são proteínas de membrana expressas em placentas humanas, envolvidas na captação e transporte de AG e, especialmente, FATP-1 e FATP-4 vêm sendo relacionadas com a captação de AGPI-CL. Por outro lado, a literatura indica função do PPARγ sobre o metabolismo lipídico, o desenvolvimento e função da placenta, a adipogênese fetal bem como a regulação da expressão das FATP. Adicionalmente, estudos anteriores mostraram que gestação com retardo de crescimento intrauterino aumenta a expressão placentária das proteínas transportadoras FATP-1 e 4. Assim, é possível supor que, acompanhando o aumento da expressão das proteínas placentárias FATP-1 e 4, também ocorra elevação da quantidade dessas proteínas em placentas de mulheres que geram recém-nascidos com RCIU, em associação com maior quantidade do receptor nuclear PPARγ, responsável por modular a atividade das FATP, principalmente FATP-1. Ademais, pressupõe-se, ainda, que estas alterações constituiriam um dos mecanismos de adaptação destinados a intensificar a captação de AGPI-CL, em situações de insuficiência placentária.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Quantificar, em placentas de gestantes adultas com gestação sem intercorrências e com RCIU, as proteínas placentárias envolvidas na transferência de AG de cadeia longa e AGE para o feto, assim como o receptor nuclear PPARγ, associando com as concentrações sanguíneas de AGPI-CL nos compartimentos materno-fetais.

4.2 Objetivos específicos

1. Quantificar, e comparar entre os grupos, as proteínas transportadoras FATP-1 e FATP-4 e o receptor nuclear PPARγ, em amostras de tecido placentário;
2. Determinar, e comparar entre os grupos, o conteúdo de AG nos eritrócitos do sangue do cordão umbilical e materno;
3. Testar associação entre o conteúdo placentário das proteínas transportadoras FATP-1 e FATP-4 e o do receptor nuclear PPARγ;
4. Testar associação entre o conteúdo das proteínas FATP-1 e FATP-4 e de PPARγ placentário com os teores de AG nos eritrócitos do sangue do cordão umbilical e materno.

5. MÉTODOS

5.1 Delineamento do estudo, captação de participantes e questões éticas

Trata-se de estudo analítico transversal (HENNEKENS; BURING, 1987), cujo planejamento obedeceu aos aspectos éticos previstos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2013). Os procedimentos de coleta de dados e de material biológico somente foram iniciados após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Maternidade Escola (ME) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) (CAAE: 0014.0.361.000-10, ANEXO A).

As gestantes foram abordadas no dia do parto e, para participação do estudo, foi solicitada sua autorização por escrito, por meio do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), que continha esclarecimentos acerca dos objetivos e procedimentos adotados, garantia de sigilo dos dados e de seu uso restrito para fins de pesquisa. Também foi solicitada autorização para a inclusão de seus filhos neste estudo (ANEXO B).

5.2 Critérios de elegibilidade

A população estudada foi constituída por 23 gestantes adultas: quinze mulheres que geraram crianças com peso entre os percentis 10 e 90, classificado como adequado para idade gestacional (AIG) (BATTAGLIA; LUBCHENCO, 1967), e oito, cujos neonatos apresentavam RCIU, bem como seus respectivos recém-nascidos. Constituiram critérios de elegibilidade:

a) gestantes consideradas saudáveis, não fumantes, não usuárias de álcool e outras drogas ilícitas, sem intercorrências clínicas (diabetes melittus tipo 1 e 2, hipertensão arterial sistêmica) e não portadoras do vírus da imunodeficiência adquirida humana (HIV).

b) fetos únicos com idade gestacional entre 37 e 40 semanas e ausência de risco infeccioso perinatal. Foram excluídos aqueles com malformações congênitas. Os recém-nascidos a termo selecionados foram agrupados conforme a presença ou ausência de RCIU, nos grupos RCIU e Controle, respectivamente.

5.3 Coleta de informações sociodemográficas, obstétricas e da assistência pré-natal

As informações sociodemográficas**,** obstétricas e da assistência pré-natal investigadas, obtidas por meio de consulta aos prontuários e entrevista, foram: idade cronológica, escolaridade, renda mensal per capita, idade gestacional, segundo a data da última menstruação e ultrassonografia; número de gestações e partos anteriores; número de consultas da assistência pré-natal e assistência nutricional pré-natal; medicamentos e/ou suplementos nutricionais usados na gestação; doença obstétrica atual; história familiar; tabagismo e uso de drogas. Foram excluídas do estudo as gestantes que não atenderam aos critérios de elegibilidade.

5.4 Avaliação antropométrica materna

Para a avaliação antropométrica das mães foi obtido o peso pré-gestacional medido na primeira consulta, quando ocorrida ainda no primeiro trimestre gestacional e a estatura, ambos registrados nos prontuários. Os dados foram coletados a partir dos prontuários ou do cartão da gestante. Essas medidas foram utilizadas para calcular o índice de massa corporal (IMC) pré-gestacional. Foi coletado também o peso pré-parto ou da última consulta do pré-natal. O ganho de peso gestacional total foi calculado pela subtração do peso pré-parto do peso pré-gestacional. Para avaliação do IMC pré-gestacional foram empregadas as classificações recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 1995) e pelo *Institute of Medicine* (IOM) (IOM, 2009), validadas, por Padilha e colaboradores (2009) para gestantes brasileiras atendidas na ME/UFRJ. Desse modo, as gestantes participantes do estudo foram classificadas como: baixo peso (IMC <18,5 kg/m^2); eutrofia (IMC $\geq$ 18,5 kg/m² e < 25 kg/m^2); sobrepeso (IMC $\geq$ 25 kg/m^2 e < 30 kg/m^2) e obesidade (IMC $\geq$ 30 kg/m^2). A adequação do ganho de peso gestacional total foi avaliada segundo as recomendações do IOM (2009), também validada por Padilha e colaboradores (2009) para gestantes brasileiras atendidas na referida maternidade.

5.5 Avaliação antropométrica do recém-nascido

Em cada grupo de recém-nascidos foram analisados os seguintes dados antropométricos, coletados dos prontuários: peso até uma hora após o nascimento,

comprimento, perímetro cefálico e idade gestacional ao nascimento, segundo a data da última menstruação. A definição de baixo peso ao nascer foi avaliada de acordo com a OMS (WHO, 2006), que define como ponto de corte o peso menor que 2.500 g. A adequação de peso para idade gestacional ao nascer foi determinada conforme proposta de Pedreira e colaboradores (2011), que classifica recém-nascidos em PIG, AIG e grande para idade gestacional (GIG), aqueles abaixo do percentil 10, entre os percentis 10 e 90 e acima do percentil 90, respectivamente. Para comprimento e perímetro cefálico ao nascer foram utilizadas, como referências, as curvas da OMS publicadas em 2006 (WHO, 2006) e 2007 (WHO, 2007), respectivamente.

Os dados coletados, correspondentes aos subitens 5.3, 5.4 e 5.5, foram registrados no protocolo de pesquisa (ANEXO C).

5.6 Diagnóstico de restrição de crescimento intrauterino

O diagnóstico de RCIU foi realizado pela equipe de obstetrícia, responsável pela realização do parto, e confirmado após o nascimento, pela equipe de pediatria, responsável pelo recém-nascido, com base nos critérios estabelecidos nas rotinas assistenciais da ME/UFRJ para RCIU (ANEXO D).

5.7 Coleta e armazenamento de amostras biológicas

Imediatamente após o parto, amostras de sangue do cordão umbilical, coletadas por ordenha manual, foram recolhidas em tubos contendo 1 g Na2- EDTA/L. Após desprezo do cordão umbilical, as placentas foram lavadas em PBS (*phosphate buffered saline*) gelado (4 °C), para retirada do excesso de sangue, e pesadas em balança digital Filizola®. Foram obtidas alíquotas da região central (5 g das faces tanto materna quanto fetal), com auxílio de bisturi, e congeladas instantaneamente em nitrogênio líquido, sendo o restante do tecido descartado. No dia seguinte, o sangue materno também foi coletado em tubos contendo 1 g Na2- EDTA/L.

Ambas as amostras de sangue (materna e do cordão) foram submetidas à centrifugação (3.500 rpm por 15 minutos a 4 ºC), para a separação do plasma e da fração de eritrócitos, de acordo com Ney e colaboradores (2009). Em seguida, foram transferidas para *eppendorfs*, devidamente identificados, e mantidos a -20 ºC. Subsequentemente, todas as amostras foram transportadas, sob refrigeração, até o Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de

Nutrição da UFRJ, onde foram armazenadas em freezer -80 ^{o}C até a ocasião das análises biomoleculares e de AG.

5.8 Quantificação de proteínas envolvidas no transporte de ácidos graxos na placenta e do receptor nuclear PPARγ

Para a quantificação, por *Western Blotting*, das proteínas de interesse (FATP-1, FATP-4 e PPARγ), as amostras de placenta de ambos os grupos (RCIU e Controle) foram maceradas, com auxílio de homogeneizador do tipo potter. O concentrado proteico das amostras de placenta foi extraído em solução contendo Hepes 50 mM, $MgCl_2$ 1 mM, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 10 mM (pH=6,4), Triton X®-100 1% (v/v), ortovanadato de sódio 2 mM e 1 µg/mL de DNase, com os seguintes inibidores de protease: fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) 1 mM, 1 µg/mL de leupeptina e 1 µg/mL de aprotinina. O conteúdo total de proteína dos homogenatos foi determinado de acordo com Bradford (1976). Os extratos proteicos foram desnaturados em tampão contendo 50 mM Tris-HCl, pH 6,8, 1 % dodecil sulfato de sódio (SDS), 5 % 2-mercaptoethanol, 10 % glicerol e 0,001 % azul de bromofenol, sob aquecimento a 100 ºC por cinco minutos em banho-maria. Alíquotas contendo 10 µg de proteínas foram aplicadas em gel 10 % ou 12% poliacrilamida-SDS, dependendo do peso molecular da proteína alvo (gel de separação composto por Tris.HCl 373 mM pH=8,8; acrilamida; bisacrilamida 2%; SDS 0,1%; APS 0,033%; TEMED 0,1% e *stacking gel* composto por Tris-HCl 125 mM pH=6,8; glicerol 5%; acrilamida 4%; bisacrilamida 0,27%; SDS 0,1%; APS 0,075% e TEMED 0,1%. Um padrão de diferentes pesos moleculares foi utilizado em todas as eletroforeses por SDS-PAGE (Rainbow Molecular Weight Marker, Amersham Biosciences) para estimar o peso molecular das proteínas. A eletroforese foi realizada em aparelho Mini-PROTEAN® Tetra, Cell Electrophoresis Chamber– Bio Rad, sob amperagem constante (25 mA) e voltagem fixada em 150 V, com tampão de corrida 1X (Tris-Base 25 mM; glicina 192 mM e SDS 0,1%).

Após finalização da corrida (com duração de aproximadamente duas horas), as proteínas foram transferidas para membranas de fluoreto de polivinilideno (PVDF) (PVDF Hybond-P, Amersham Pharmacia Biotech), em aparelho de transferência Trans-Blot® Turbo, a 15 V, 328 mA, durante uma hora. Em seguida, sítios inespecíficos presentes na membrana foram bloqueados em solução TBS-T (Tris 2 mM, NaCl 0,5 M, pH 7,5, Tween 20 0,05 %) adicionado de albumina de soro bovino (BSA) a 5 % por 30 minutos. Logo após, as

membranas foram incubadas por 18 horas a 4 ^{o}C com os anticorpos primários FATP-1 (1:1.000), FATP-4 (1:1.000) e PPARγ (1:2.000) (policlonais, ABCAM), diluídos em T-TBS. Após três lavagens consecutivas com T-TBS, por cinco minutos cada, as membranas foram incubadas, durante uma hora e a temperatura ambiente, com o anticorpo secundário anti IgG (de acordo com a origem do anticorpo primário utilizado), conjugado com biotina, diluído em T-TBS (1:2.000). Após mais três lavagens com T-TBS, durante dez minutos cada, as membranas foram incubadas com estreptavidina conjugada a peroxidase (HRP), diluída em T-TBS (1:1.000), por uma hora em temperatura ambiente, sendo lavadas, ao final do processo com T-PBS, durante dez minutos.

As membranas foram sensibilizadas, evidenciando as bandas, com amplificador de quimioluminescência (ECL) e reveladas em fotodocumentador (ChemiDoc® – Bio-Rad). Como controle de carga foi utilizada a proteína constitutiva beta actina (Santa Cruz Biotechnology), considerada referência (100 %) para a expressão relativa dos resultados das proteínas investigadas. As bandas foram quantificadas por densitometria, utilizando-se o Software Image J (NIH, USA).

5.9 Determinação de ácidos graxos em eritrócitos maternos e do cordão umbilical

Os teores de AG dos lipídios totais dos eritrócitos de sangue materno e fetal foram determinados por cromatografia gás-líquido, utilizando equipamento Agilent Technologies 7890A CG System, equipado com detector de chama ionizável (FID), acoplado ao software EZChrom Elite CDS (Agilent Technologies, Inc., CA, USA).

Os procedimentos de extração, saponificação e metilação dos AG foram realizados de acordo com o método oficial da *American Oil Chemists' Society* Ce 2b-11 (AOCS, 2013). Alíquotas de aproximadamente 1 g de eritrócitos, pesadas em balança digital analítica (SHIMADZU®), foram transferidas para tubos Pirex® e adicionadas de 5 mL de NaOH/metanol 0,5 M. Posteriormente foi adicionado 1 mL de padrão interno (C13:0 em hexano; 5 mg/mL) e a mistura foi aquecida a 100 ºC por 15 minutos. Em seguida, os tubos foram parcialmente imersos em gelo, por aproximadamente 5 minutos, receberam 5 mL de trifluoreto de boro 14 %/metanol, sob leve agitação, e foram novamente aquecidos a 100 ºC, por 2 minutos, e resfriados em gelo. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de NaCL saturado e 4 mL de hexano a cada tubo, sob suave agitação, e em seguida foram mantidos em repouso por 30 minutos para a separação das fases. Os ésteres metílicos formados na parte superior do tubo foram filtrados e coletados em *vials* de 1 mL, próprios para amostrador

automático de cromatógrafo a gás, contendo 50 mg de sulfato de sódio anidro, e estocados em freezer -20 ºC até submissão à cromatografia gasosa.

Para separação dos ésteres metílicos foi utilizada coluna capilar de sílica fundida SP-2560 de bis-cianopropil polisiloxano (Supelco Inc., PA, USA) com 100 m de comprimento x 0,25 μm x 0,2 μm de diâmetro interno, cuja programação de temperatura da coluna foi estabelecida para 100 °C, com taxa de aumento de 3 °C/minuto, alcançando a temperatura de 140 °C. A taxa de aumento da temperatura foi de 0,5 °C/minuto até alcançar 170°C, sendo depois de 3,2 °C/minuto até 220 °C, permanecendo nesta temperatura por 35 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 ºC. Os fluxos de gases (Linde Gases, RJ, BR) foram de 0,75 mL/minuto para o gás de arraste (hidrogênio); 25 mL/minuto para o gás auxiliar (nitrogênio); 30 mL/ minuto e 400 mL/ minuto para o hidrogênio e para o ar sintético da chama, respectivamente. A razão de divisão da amostra foi de 1/1 *(splitless).* As injeções foram realizadas por meio de injetor automático e o volume de injeção foi de 1 μL.

Os AG metilados foram identificados com base na comparação com o tempo de retenção relativo dos picos do padrão (Nu-Chek Prep. Inc., mistura de ésteres metílicos 463) e a quantificação de cada AG foi realizada utilizando-se o padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich) como referência. Os valores foram expressos como mg de AG/100 mg AG totais.

5.10 Análise estatística

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o *software GraphPad Prism* 5 e o nível de significância adotado foi de 5 % ($p < 0,05$). O teste t pareado e o teste de *Mann-Whitney* foram utilizados para comparar dados de um mesmo grupo, com distribuições paramétricas e não paramétricas, respectivamente. Para avaliação das correlações entre as variáveis contínuas, considerados ambos os grupos foi utilizado o coeficiente de correlação de *Pearson* ou de *Spearman*, dependendo da natureza das variáveis (de distribuição normal ou não, respectivamente).

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização sociodemográfica, obstétrica e antropométrica das gestantes

Vinte e três gestantes que atenderam aos critérios de elegibilidade foram incluídas neste estudo. Deste total, quinze, que geraram neonatos AIG, integraram o grupo denominado "Controle" e, oito, que geraram neonatos com diagnóstico de restrição de crescimento intrauterino, foram inseridas no grupo RCIU.

A análise dos dados relativos à escolaridade destas mulheres indicou que 80 % apresentavam primeiro grau incompleto, existindo diferença entre os grupos quanto ao número de anos de estudo, menor no grupo RCIU (4,2 ± 1,0), comparado ao Controle (7,62 ± 3,42) (p=0,015). Considerando as informações referentes aos recursos financeiros, as gestantes pertenciam, em sua maioria, a famílias com renda mensal menor do que um salário mínimo per capita, com valores médios correspondentes a R$ 461,45 ± 213,38 (RCIU) e R$ 365,20 ± 265,42 (Controle).

Na Tabela 1 observa-se que a média de idade materna foi similar entre ambos os grupos. De outro modo, o número médio de partos, anteriores a gestação sob investigação no presente estudo, foi aproximadamente 64 % superior no grupo Controle, em relação ao RCIU. Nesse último grupo, a maioria das gestantes era primípara. Todas as gestantes realizaram pré-natal, cujo número médio de consultas médicas, para ambos os grupos ultrapassou o mínimo considerado adequado (seis ou mais) (BRASIL, 2000). O mesmo não foi observado com relação à assistência nutricional no pré-natal, cujo número médio de consultas destinadas especificamente a este tipo de acompanhamento foi restrito para ambos os grupos (Controle: 2; RCIU: 1). Constatou-se também maior ganho de peso materno durante a gestação no grupo Controle em relação ao RCIU. Considerando os dados antropométricos de todas as gestantes, tanto em relação ao IMC pré-gestacional, quanto ao IMC pré-parto, não foram verificadas diferenças significativas.

Tabela 1 - Características maternas associadas à gestação de recém-nascidos Controle e RCIU, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.

Variáveis	Grupo Controle (n=15) Média ± DP [min-max (med)]	Grupo RCIU (n=8) Média ± DP [min-max (med)]	*p valor*[1]
Idade materna (anos)	26,00 ± 4,84 [20-34 (25,0)]	25,62 ± 6,54 [20-30 (24,0)]	0,4490
Número de partos realizados em gestações anteriores	2,25 ± 1,28 [1-3 (1,0)]	1,37 ± 0,51 [1-2(1,0)]	**0,0475**
Número de consultas no pré-natal	8,12 ± 2,10 [6-12 (7,5)]	7,25 ± 2,37 [3-10 (7,5)]	0,2240
Número de consultas nutricionais no pré-natal	1,53±0,39 [0-5(2)]	0,5±1,06 [0-3(1)]	0,4800
Ganho de peso durante a gestação (g)	15,33 ± 2,41 [14-19 (15,0)]	9,76 ± 4,01 [3,1-13,5 (11,5)]	**0,0022**
IMC pré-gestacional (kg/m^2)	22,98 ± 2,45 [18,8-26,0 (23,6)]	24,69 ± 3,86 [18,3-29,8 (25,0)]	0,1542
IMC pré-parto (kg/m^2)	29,05 ± 2,93 [24,2-34,2 (29,1)]	28,65 ± 4,21 [20,9-33,3 (30,0)]	0,4145

RCIU: restrição de crescimento intrauterino; DP: desvio padrão; min: mínimo; max: máximo; med: mediana; IMC: índice de massa corporal; [1] teste *t* de *Student*.

6.2 Caracterização do estado nutricional antropométrico dos recém-nascidos e variáveis do parto

Conforme se observa na Tabela 2, apesar de a média da idade gestacional ao nascimento não ter sido diferente entre os grupos, a descrição do peso ao nascer, segundo esta variável, evidenciou valores inferiores para crianças RCIU, em relação aos neonatos do grupo Controle. Os dados relativos ao perímetro cefálico ao nascer acompanharam o mesmo comportamento, mostrando-se menores no grupo RCIU. Adicionalmente, o peso das placentas do grupo RCIU foi expressivamente inferior ao do grupo Controle.

Tabela 2 - Caracterização do estado nutricional antropométrico dos recém-nascidos e variáveis do parto, grupos Controle e RCIU, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.

Variáveis	Grupo Controle (n=15) Média ± DP [min-max (med)]	Grupo RCIU (n=8) Média ± DP [min-max (med)]	*p valor*[1]
Idade gestacional ao nascer (semanas)	39,62 ± 0,91 [38-40 (40)]	38,50 ± 1,51 [37-40 (38)]	0,2180
Peso ao nascer/idade gestacional (g)	3.339 ± 403 [2.790-3.900 (3.290)]	2.398 ± 296 [2.000-2.925 (2.337)]	**0,0001**
Comprimento ao nascer (cm)	47,62 ± 6,01 [33-51,5 (49)]	45,56 ± 1,65 [44-48,5 (45)]	0,1828
Perímetro Cefálico ao nascer (cm)	35,68 ± 4,77 [32-47 (34)]	32,31 ± 1,06 [30,5-33,5 (32)]	**0,0356**
Peso da placenta (g)	645,00 ± 100,78 [520-830 (645)]	464,37 ± 39,31 [410-530 (474)]	**0,0001**

RCIU: restrição de crescimento intrauterino; DP: desvio padrão; min: mínimo; max: máximo; med: mediana [1] teste *t* de *Student.*

6.3 Conteúdo das proteínas transportadoras de ácidos graxos, FATP-1 e FATP-4, e do receptor nuclear PPARγ na placenta

O teor da proteína transportadora FATP-1 na placenta do grupo RCIU foi, aproximadamente, 73% mais elevado do que o verificado para o grupo Controle (1,9 ± 0,23 e 1,1 ± 0,23, respectivamente, p=0,0461) (Figura 10).

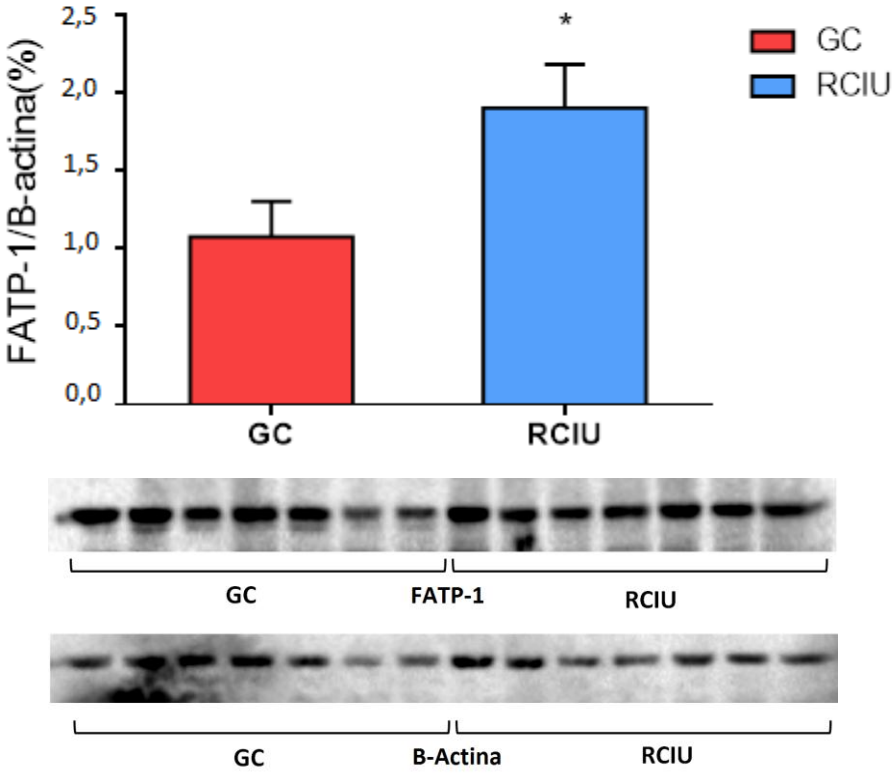

Figura 10. Teores da proteína transportadora de ácidos graxos FATP-1 na placenta dos grupos Controle e RCIU GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino. A quantidade da proteína está expessa como porcentagem de ß-actina *Médias significativamente diferentes entre os grupos GC e RCIU (teste t não pareado, $p<0,05$).

De outro modo, para a proteína transportadora FATP-4, as diferenças encontradas entre os grupos RCIU e Controle não alcançaram significância estatística (2,0 ± 0,36 e 1,1 ± 0,04, respectivamente, $p=0,14$) (Figura 11).

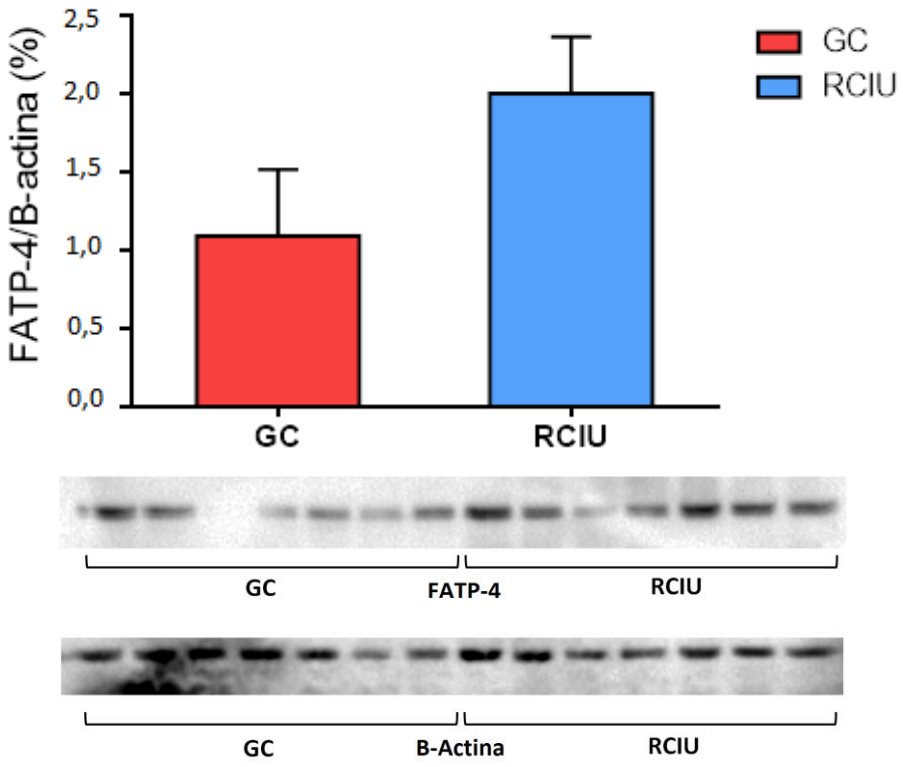

Figura 11. Teores da proteína transportadora de ácidos graxos FATP-4 na placenta dos grupos Controle e RCIU GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino. A quantidade da proteína está expessa como porcentagem de ß-actina.

Quando avaliado o conteúdo do receptor nuclear PPARγ, foi constatada expressiva elevação (225 %) do valor médio encontrado na placenta do grupo RCIU em relação ao grupo Controle (3,9 ± 0,67 e 1,2 ± 0,18, respectivamente, p=0,0038) (Figura 12).

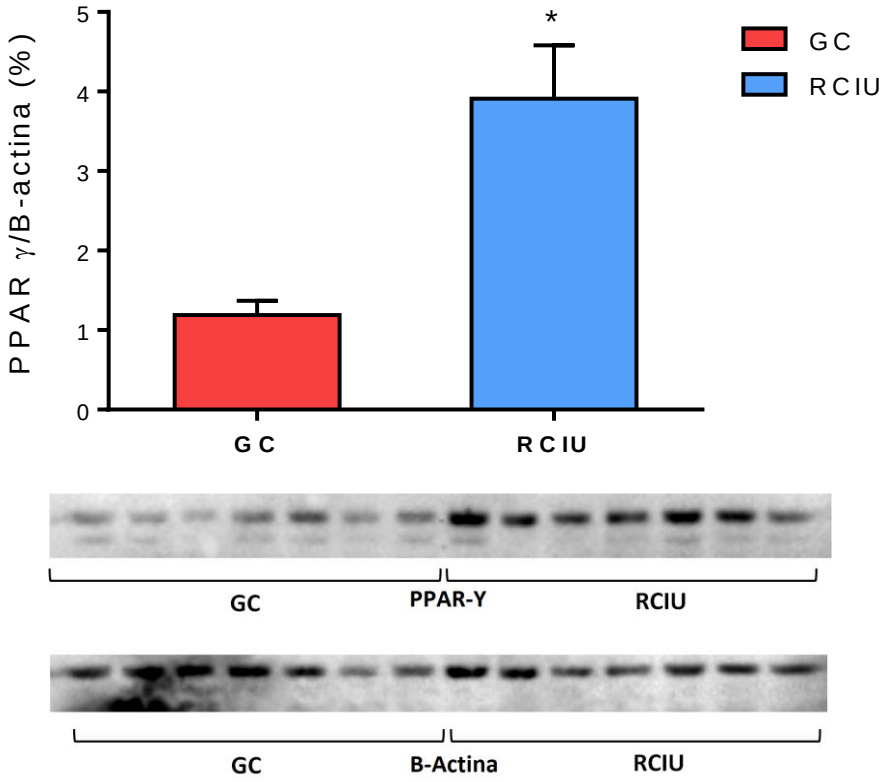

Figura 12. Teores de PPARγ na placenta dos grupos Controle e RCIU. GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino. A quantidade da proteína está expessa como porcentagem de ß-actina. * Médias significativamente diferentes entre os grupos GC e RCIU (teste t não pareado), p<0,05.

6.4 Conteúdo de ácidos graxos no sangue materno e do cordão umbilical

Considerando os eritrócitos maternos, de ambos os grupos, observou-se que o conteúdo total de AGPI-CL (EPA, DHA e AA) no grupo RCIU (19,6 ± 1,4 mg/100mg) assim como o somatório de AGPI-CL n-3 deste grupo (6,7 ± 0,9 mg/100mg) foram inferiores aos respectivos valores do grupo Controle (21,9 ± 3,3 e 8,5 ± 1,2 mg/100mg) (Figura 13).

Padrão similar foi observado nos eritrócitos fetais, cujos valores relativos ao total de AGPI-CL dos grupos RCIU e Controle, foram, respectivamente, 24,1 ± 3,3 e 27,1 ± 1,5 mg/100mg. Enquanto para o total de AGPI-CL n-3, os teores médios correspondentes aos eritrócitos fetais do grupo RCIU alcançaram 6,5 ± 0,5 mg/100mg e os referentes ao grupo Controle, 7,7 ± 1,1 mg/100mg (Figura 14).

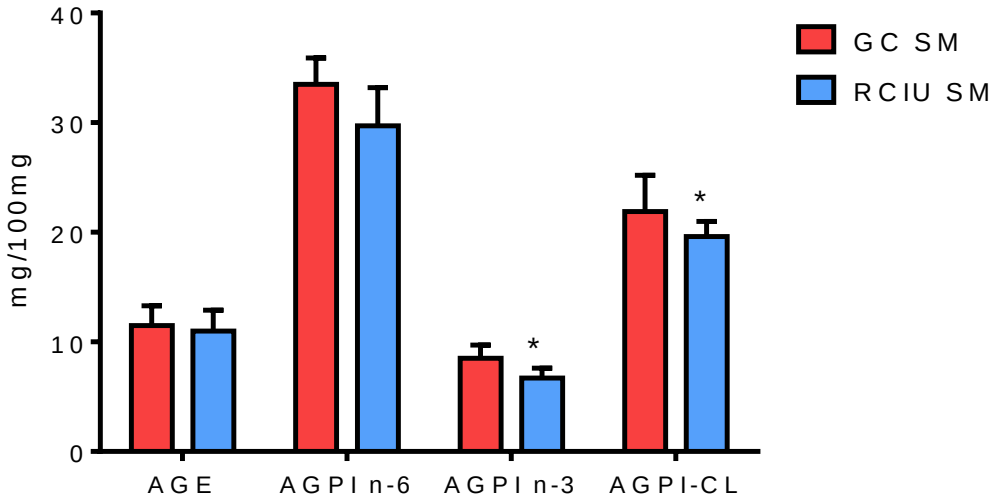

Figura 13. **Conteúdo de ácidos graxos essenciais e derivados de cadeia longa em eritrócitos de sangue materno nos grupos Controle e RCIU**. GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino; SM: sangue materno; AGE: ácidos graxos essenciais, incluem, C18:3 n-3 e C18:2 n-6; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; n-6, incluem, C18:2, C18:3, C20:3, C20:4 e C22:4; n-3, incluem, C18:3, C20:5, C22:5 e C22:6; AGPI-CL: ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, incluem, os ácidos eicosapentaenoico (EPA), docasahexaenoico (DHA) e araquidônico (AA). *Médias significativamente diferentes entre os grupos GC e RCIU (teste t não pareado), p<0,05.

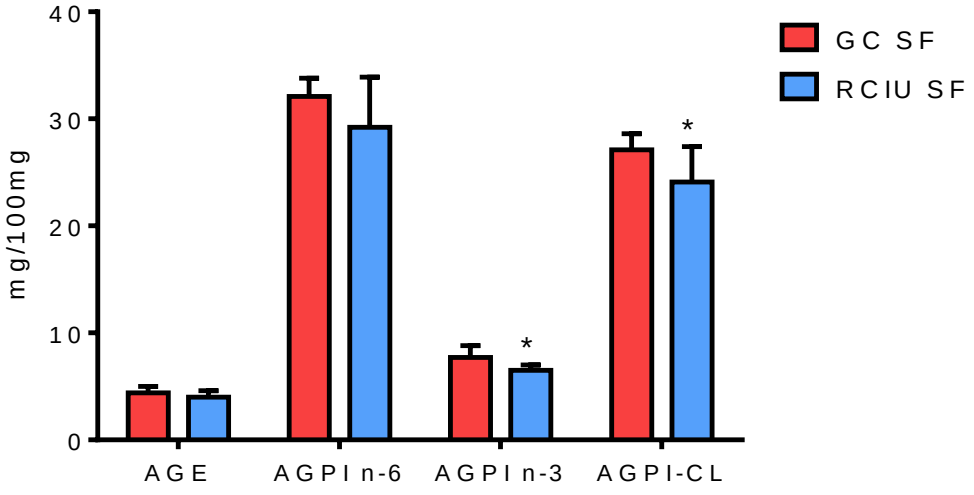

Figura 14. **Conteúdo de ácidos graxos essenciais e derivados de cadeia longa em eritrócitos de sangue fetal nos grupos Controle e RCIU**. GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino; SF: sangue fetal; AGE: ácidos graxos essenciais, incluem, C18:3 n-3 e C18:2 n-6; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; n-6, incluem, C18:2, C18:3, C20:3, C20:4 e C22:4; n-3, incluem, C18:3, C20:5, C22:5 e C22:6; AGPI-CL: ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, incluem, os ácidos eicosapentaenoico (EPA), docasahexaenoico (DHA) e araquidônico (AA). *Médias significativamente diferentes entre os grupos GC e RCIU (teste t não pareado), p<0,05.

Quando os principais ácidos graxos de cadeia longa de importância nutricional foram considerados isoladamente (Figuras 15 e 16), os teores de AA e de DHA nos eritrócitos do sangue materno do grupo RCIU (12,0 ± 2,1 e 3,6 ± 0,7 mg/100mg, respectivamente) se apresentaram mais reduzidos, comparados aos do grupo Controle (15,8 ± 1,7 e 5,5 ± 1,3 mg/100mg, respectivamente). Nos eritrócitos fetais do grupo RCIU, também foi verificado menor conteúdo de AA (16,4 ± 3,5 mg/100mg) e de DHA (4,6 ± 0,8 mg/100mg), em relação aos respectivos valores identificados no grupo Controle (20,0 ± 1,6 e 6,1 ± 0,9 mg/100mg).

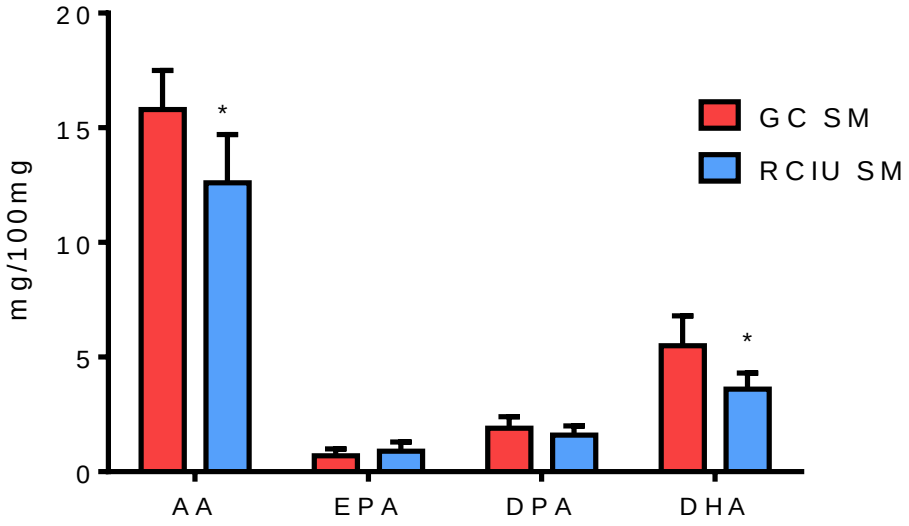

Figura 15. Conteúdo de AA, EPA, DPA e DHA em eritrócitos de sangue materno nos grupos Controle e RCIU. GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino; SM: sangue materno; AA: ácido araquidônico (C20:4 n-6); EPA: ácido eicosapentaeoico (C20:5 n-3); DPA: ácido docosapentaenoico (C22:5 n-3); DHA: ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3); *Médias significativamente diferentes entre os grupos GC e RCIU (teste t não pareado), $p<0,05$.

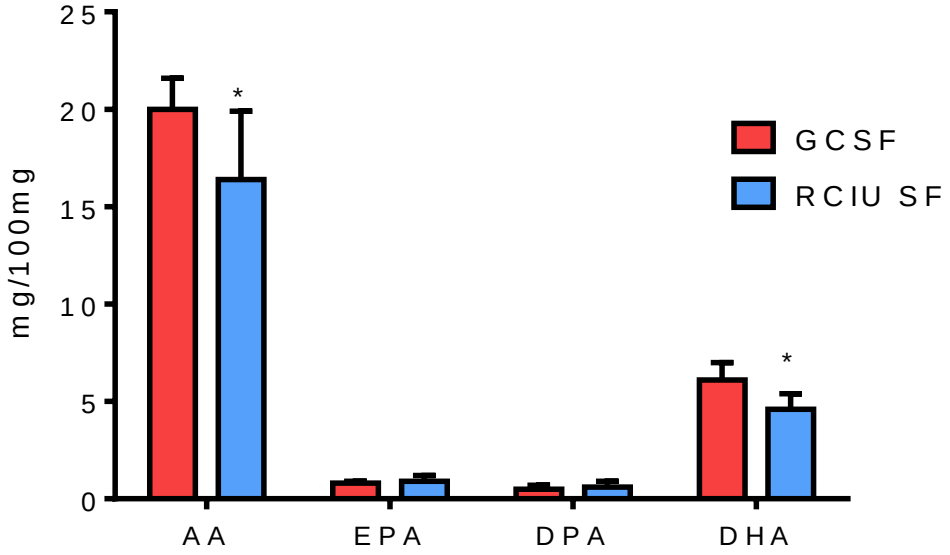

Figura 16. Conteúdo de AA, EPA, DPA e DHA em eritrócitos de sangue fetal nos grupos Controle e RCIU. GC: grupo controle; RCIU: grupo restrição de crescimento intrauterino; SF: sangue fetal; AA: ácido araquidônico (C20:4 n-6); EPA: ácido eicosapentaeoico (C20:5 n-3); DPA: ácido docosapentaenoico (C22:5 n-3); DHA: ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3); *Médias significativamente diferentes entre os grupos GC e RCIU (teste t não pareado), p<0,05.

6.5 Análise dos testes de correlação

Não foram encontradas associações significativas entre os teores do receptor nuclear PPARγ e o conteúdo das proteínas transportadoras FATP-1 (r=0,043, p=0,889) e FATP-4 (r=0,295, p=0,408) nas placentas de ambos os grupos.

De outro modo, correlação positiva, moderada (0,30 > r < 0,69), foi identificada entre o conteúdo do receptor PPARγ na placenta e os teores de DHA no sangue materno (r=0,60, p=0,039).

O conteúdo da proteína transportadora FATP-1 na placenta apresentou correlação negativa, tanto com o peso da placenta (r = - 0,692 e p = 0,009), quanto com o peso do recém-nascido (r= -0,564 e p = 0,045). De outro modo, a correlação foi positiva, quando considerada a associação com o conteúdo de FATP-4 (r = 0,600 e p = 0,039).

7 DISCUSSÃO

Ácidos graxos são fontes de energía, elementos estruturais necessários às membranas celulares, bem como precursores de importantes compostos bioativos (INNIS, 2007). Adicionalmente, estes compostos lipídicos são essenciais para o desenvolvimento de órgãos e tecidos fetais, incluindo a acumulação da massa adiposa (CUNNINGHAM; McDERMOTT, 2009). Ainda que os fetos possam sintetizar AG saturados e monoinsaturados, a partir da glicose, a formação de AGPI-CL, em particular DHA e AA, não parece ser quantitativamente efetiva no organismo fetal (LE et al., 2009). A placenta apresenta, portanto, função essencial na captação e regulação do transporte de AG advindos da circulação materna e realiza transporte seletivo e preferencial de AGPI-CL (LARQUE et al., 2011). Contudo, os mecanismos envolvidos neste processo ainda não são completamente conhecidos. Dados relativos às gestações sem complicações apontam para a essencialidade da transferência dos AGPI-CL para o feto. Naquelas situações que envolvem alterações placentárias, como é o caso do RCIU, é possível conceber importância ainda maior no sentido da compreensão das prováveis mudanças relacionadas a esta transferência. De fato, prejuízos neste processo têm sido associados com efeitos adversos sobre o desenvolvimento fetal, com consequências para a saúde do indivíduo ao longo da vida (LAGER; POWELL, 2012; MAGNUSSON et al., 2014).

A captação e o transporte de AG pela placenta envolvem difusão passiva ou mediadores proteicos. As FATP são proteínas de membrana importantes para a captação de AGPI-CL (KAZANTZIS; STAHL, 2012) e, em especial, FATP-1 e FATP-4 vêm sendo relacionadas com a captação de DHA na placenta (LARQUE et al., 2006b). Essas proteínas apresentam função acil-coenzima A (acil-CoA), o que facilita o destino metabólico dos AG que transportam. O PPARγ é capaz de modular a expressão das FATP-1 e FATP-4 e, consequentemente, regula a captação de AG pelos trofoblastos (SCHAIFF et al., 2007).

Assumpção (2015), em estudo anterior, encontrou elevação na expressão das proteínas placentárias FATP-1 e 4, em gestação com RIUC, corroborando dados verificados por outros autores (HOLDSWORTH-CARSON et al., 2010). No presente estudo, a quantidade da FATP-1 na placenta do grupo RCIU foi superior à do grupo Controle, quando avaliada pela técnica de *Western Blotting*, em associação com maior quantidade do receptor nuclear PPARγ. Estes achados são sugestivos da existência de ajustes adaptativos da placenta, objetivando garantir o fornecimento mais adequado de DHA ao feto com crescimento intrauterino restrito.

Diferentemente da FATP-1, FATP-4 está relacionada com o transporte seletivo de DHA (LARQUÉ et al., 2006a) e, na presente investigação, os teores deste transportador não foram diferentes quando as placentas das mulheres de ambos os grupos foram analisadas e comparadas. Esse achado poderia explicar o conteúdo mais reduzido de DHA, observado nos eritrócitos dos neonatos RCIU. Tanto FATP-1 como FAPT-4 não se correlacionaram com o DHA dos eritrócitos do cordão, porém FATP-1 apresentou correlação negativa com o peso da placenta e o peso do neonato, sugerindo a existência de mecanismo autorregulatório predominante.

A massa da placenta constitui medida indireta da superfície disponível para as trocas de nutrientes e metabólitos entre a gestante e o feto, de modo que o peso do órgão está implicado no transporte de nutrientes para o concepto (FOWDEN et al., 2006) e é considerado determinante do peso e do crescimento fetal (ROLAND et al., 2012). Recém-nascidos RCIU, no presente estudo, apresentaram perímetro cefálico e peso ao nascer, segundo a idade gestacional, inferiores aos valores observados para o grupo Controle. Adicionalmente, o peso das placentas no grupo RCIU foi expressivamente inferior ao do Controle (aproximadamente 39 %). Constatou-se, ainda, menor ganho de peso materno durante a gestação no grupo RCIU em relação ao Controle. Além disso, foi também observado que a maioria das gestantes não recebeu acompanhamento nutricional no pré-natal adequado. Assim, é possível supor que condições nutricionais maternas inadequadas possam ter contribuído na etiologia da RCIU, conforme já foi sugerido por Cetin, Mandó e Calabrese (2013).

A análise conjunta dos achados descritos sugere que a placenta funciona como sensor capaz de responder às alterações nutricionais (CETIN; MANDÒ; CALABRESE, 2013) e estruturais (redução da sua massa e, possivelmente, de fluxo sanguíneo), modulando a quantidade e/ou expressão das FATP. Deste modo, se buscaria garantir o suprimento de AGPI-CL para a demanda fetal (HANEBUTT et al., 2008; GACCIOLI et al., 2013).

Há referência de que as FATP podem aumentar sua atividade tornando mais eficiente a internalização de AGPI-CL na placenta, principalmente quando as concentrações destes lipídios na circulação materna estão reduzidas (DUTTA-ROY, 2009). A análise do conteúdo de AGPI-CL em eritrócitos maternos, do presente estudo, mostrou valores significativamente menores de AA e DHA no grupo RCIU.

O receptor nuclear PPARγ é essencial para o desenvolvimento placentário, viabilizando, portanto, adequado crescimento fetal (SCHAIFF et al., 2005). O estudo de Barak e colaboradores (1999) mostrou que a deleção do gene PPARγ em ratos causou morte

embrionária, resultante da malformação placentária, sugerindo que o receptor seria fundamental para induzir a diferenciação dos trofoblastos. Os defeitos de malformação observados foram acompanhados pela ausência de gotículas de lipídios nas células dos trofoblastos, demonstrando, assim, que além da relação com o desenvolvimento placentário o receptor nuclear estaria associado com a captação de lipídios pela placenta. Posteriormente, Schaiff, Barak e Sadovsky (2006) evidenciaram que a ativação do PPARγ aumenta a captação e o acúmulo de AGPI-CL na placenta, favorecendo sua transferência ao feto. Estes autores sugeriram possível ação moduladora do receptor nuclear sobre a expressão das FATP-1 e FATP-4, regulando, assim, a captação de AG pelos trofoblastos.

Na presente investigação, acompanhando o aumento do conteúdo da FATP-1, observamos maior quantidade do receptor nuclear PPARγ nas placentas do grupo RCIU em relação ao grupo Controle. Holdsworth-Carson e colaboradores (2010), também estudando RCIU, encontraram resultados similares. Estes autores sugeriram que o aumento do PPARγ na placenta poderia ser causa ou resposta adaptativa ao fenótipo da doença. Alguns autores defendem a hipótese de que o aumento da ativação do PPARγ está associado com redução da placenta e do tamanho do feto, constituindo, assim, causa destas alterações (SCHAIFF et al., 2007). Outros consideram a hipótese da resposta adaptativa, argumentado que o PPARγ pode fornecer proteção contra a hipóxia e/ou deficiência de nutrientes, decorrentes do insuficiente desenvolvimento placentário (BIRON-SHENTAL et al., 2007). Assim, ainda são necessárias investigações adicionais, envolvendo gestação humana, a fim de proporcionar melhor compreensão acerca do papel do PPAR em enfermidades da placenta.

De fato, é possível supor que o aumento nos teores de FATP e PPARγ, nas placentas do grupo RCIU, verificado neste estudo, constitui mecanismo adaptativo, visando garantir suprimento suficiente de AGPI-CL para o desenvolvimento do concepto. No entanto, as concentrações de AA e DHA nos eritrócitos fetais deste grupo não alcançaram valores adequados, se mantendo mais reduzidas, em relação ao grupo Controle.

A compreensão destes resultados pode ser alcançada, considerando-se hipótese que envolve argumentação conceitual, relacionada ao metabolismo dos ácidos graxos. Neste contexto, se reconhece que as proteínas de transferência de AG, FATP, são as principais moléculas transportadoras envolvidas na captação dessas estruturas lipídicas, no entanto, na placenta, também apresentam eficiente atividade enzimática ligase acil-CoA (KAZANTZIS; STAHL, 2012). Assim, os AG internalizados pelas FATP são, no citoplasma, imediatamente convertidos em ésteres de acil-CoA (DUTTA-ROY, 2009, ZHAN et al., 2012), favorecendo, deste modo, sua entrada nas vias metabólicas e dificultando sua saída dos trofoblastos. Não se

conhece, na atualidade, nenhum transportador para ésteres de acil-CoA na placenta (HERRERA; DESOYE, 2015), de modo que ésteres acil-CoA-AG necessitam ser hidrolizados, por meio da ação de tiosterases-acil-CoA, e liberados como AGNE. Desta forma, atravessam os sinciciotrofoblastos e alcançam a circulação fetal. Não há evidências da presença de tiosterases-acil-CoA na placenta humana (HERRERA; DESOYE, 2015).

É possível que maiores concentrações de FATP, resultante de expressão modulada por PPARγ, seja, de fato, mecanismo adaptativo, destinado a intensificar a captação de AGPI-CL em placentas com RCIU, no entanto, o conteúdo destes derivados de cadeia longa, efetivamente transferido para a circulação fetal, ainda é desconhecido.

Em conclusão, podemos sugerir cenário de adaptação nos casos de RCIU, de forma que o organismo busca, por meio do aumento das proteínas transportadoras de AG e do receptor PPARγ, garantir ambiente favorável ao desenvolvimento do feto. No entanto, a disponibilidade de AGPI-CL para a circulação fetal se mostrou menos eficiente no grupo RCIU, uma vez que os eritrócitos deste grupo, tanto maternos, quanto fetais, apresentaram menores concentrações de AA e DHA, comparados aos do grupo Controle. Melhor compreensão acerca dos mecanismos relacionados à transferência de lípidios pela placenta, nas situações normais, bem como naquelas envolvendo restrição de crescimento intrauterino, exige pesquisas adicionais, tratando da dinâmica da função placentária, sob a ótica da biologia molecular dos trofoblastos.

Dentre as limitações do presente estudo, destacamos o reduzido número de mulheres participantes, entretanto, tem sido usual, em outras investigações sobre o tema, modesto número de casos RCIU (MAGNUSSON et al., 2014; TABANO et al., 2006). Limitação adicional diz respeito ao fato de não ter sido efetuada análise da expressão gênica do receptor nuclear PPARγ. Deste modo, não é possível afirmar que o aumento observado nas concentrações deste receptor seja, necessariamente, decorrente da expressão diferencial de gene envolvido na modulação de processos de captação e transporte de AGPI-CL pela placenta, em situações de RCIU.

8 CONCLUSÃO

Nesta dissertação foi investigado, em puérperas, e seus recém-nascidos, com e sem RCIU (grupos RCIU e Controle, respectivamente), o perfil de AG em eritrócitos, nos compartimentos materno-fetais, assim como os conteúdos das proteínas FATP-1 e FATP-4 e do receptor nuclear PPARγ, presentes nas placentas de ambos os grupos estudados, moléculas envolvidas na captação e/ou transporte de AGE e AGPI-CL.

Foram verificadas menores concentrações de AA e DHA nos eritrócitos do sangue materno do grupo RCIU, quando comparadas as do grupo Controle, indicando diferenças quanto ao estado nutricional materno relativo a estes AGPI-CL. Neste contexto, foram identificadas maiores quantidades da proteína FATP-1 e do receptor nuclear PPARγ em placentas do grupo RCIU, comparativamente as do grupo Controle, sugerindo constituir mecanismo adaptativo. No entanto, esse aumento não foi suficiente para assegurar transporte eficiente de AGPI-CL para o feto com RCIU.

Considerando-se os dados que apontaram inadequação de ganho de peso materno durante a gestação e exígua assistência nutricional pré-natal, reitera-se o reconhecimento da necessidade da inserção do acompanhamento nutricional entre as rotinas de assistência pré-natal, que devem prever o monitoramento de fatores preditores das condições ao nascer. Nos casos de gestações complicadas com RCIU, deve-se assegurar orientação quanto às medidas dietéticas necessárias para viabilizar adequado suprimento de AGPI-CL, principalmente DHA, buscando, assim, aumentar as chances para desfechos obstétricos mais satisfatórios.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, B.D. Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR alpha), beta (PPAR beta), and gamma (PPAR gamma) in rodent and human development. **Reprod Toxicol**, v. 27, n. 3-4, p. 246-57, 2009.

AILHAUD, G.; GRIMALDI, P.; NÉGREL, R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. **Annu Rev Nutr**, v.12, p. 207-33, 1992.

ALDORETTA, P.W.; HAY, W.W. Jr. Metabolic substrates for fetal energy metabolism and growth. **Clin Perinatol**, v. 22, n. 1, p. 15-36, 1995.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). Official Method Ce 2b-11. Direct methylation of lipids in foods by alkali hydrolysis, in **AOCS Official Methods and Recommended Practices** of the AOCS, 2013.

ASSUMPÇÃO, R.P. Proteínas placentárias e ácidos graxos de cadeia longa na determinação do retardo do crescimento intrauterino (RCIU): Estudo biomolecular. Rio de Janeiro, 2014. 115f. **Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais),** Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.

BARAK, Y.; NELSON, M.C.; ONG, E.S.; JONES, Y.Z.; RUIZ-LOZANO, P.; CHIEN, K.R.; KODER, A.; EVANS, R.M. PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. **Mol Cell**, v. 4, n. 4, p. 585-95, 1999.

BARKER, D.J. Adult consequences of fetal growth restriction. **Clin Obstet Gynecol**, v. 49, n. 2, p. 270-83, 2006.

BATTAGLIA, F.C.; LUBCHENCO, L.O. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. **J Pediatr**, v. 71, n. 2, p.159-63, 1967.

BATALLE, D.; EIXARCH, E.; FIGUERAS, F.; MUÑOZ-MORENO, E.; BARGALLO, N.; ILLA, M.; ACOSTA-ROJAS, R.; AMAT-ROLDAN, I.; GRATACOS, E. Altered small-world topology of structural brain networks in infants with intrauterine growth restriction and its association with later neurodevelopmental outcome**. Neuroimage**, v. 60, n. 2, p. 1352-66, 2012.

BILDIRICI, I.; ROH, C.R.; SCHAIFF, W.T.; LEWKOWSKI, B.M., NELSON, D.M.; SADOVSKY, Y. The lipid droplet-associated protein adipophilin is expressed in human trophoblast and is regulated by peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma/retinoid X receptor. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 12, p. 6056-62, 2003.

BIRON-SHENTAL, T.; SCHAIFF, W.T.; RATAJCZAK, C.K.; BILDIRICI, I.; NELSON, D.M.; SADOVSKY, Y. Hypoxia regulates the expression of fatty acid-binding proteins in primary term human trophoblasts. **Am J Obstet Gynecol**, v. 197, n. 5, p. 516.e1-6, 2007.

BITSANIS, D.; CRAWFORD, M.A.; MOODLEY, T.; HOLMSEN, H.; GHEBREMESKEL, K.; DJAHANBAKHCH, O. Arachidonic acid predominates in the membrane phosphoglycerides of the early and term human placenta**. J Nutr**, v. 135, n. 11, p. 2566-71, 2005.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema único de saúde. **Portaria Nº 570, de 1 de junho de 2000, que estabelece o Programa de humanização no pré-natal e nascimento**. Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Resolução nº 466/12 sobre pesquisa envolvendo seres humanos**. Brasília, 2013.

CALDER, P.C. N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. **Lipids**, v. 38, p. 343-52, 2003.

CALDER, P.C. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale? **Nutr Res**, v. 21, p. 309-41, 2001.

CAMPBELL, F.M.; BUSH, P.G.; VEERKAMP, J.H.; DUTTA-ROY, A.K. Detection and cellular localization of plasma membrane-associated and cytoplasmic fatty acid-binding proteins in human placenta. **Placenta**, v. 19, n. 5-6, p. 409-15, 1998**.**

CAMPBELL, F.M.; DUTTA-ROY, A.K. Plasma membrane fatty acid-binding protein (FABPpm) is exclusively located in the maternal facing membranes of the human placenta. **FEBS Lett**, v. 375, n. 3, p. 227-30, 1995.

CAMPBELL, F.M.; GORDON, M.J.; DUTTA-ROY, A.K. Placental membrane fatty acid-binding protein preferentially binds arachidonic and docosahexaenoic acids. **Life Sci**, v. 63, n.4, p. 235-40, 1998.

CATALANO, P.M. Downregulated IRS-1 and PPARgamma in obese women with gestational diabetes: relationship to FFA during pregnancy. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 282, n. 3, p. E522-33, 2002.

CETIN, I.; ALVINO, G. Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport. A review. **Placenta**, v. 30, suppl. A, p. s77-82, 2009.

CETIN, I.; GIOVANNINI, N.; ALVINO, G.; AGOSTONI, C.; RIVA, E.; GIOVANNINI, M.; PARDI, G. Intrauterine growth restriction is associated with changes in polyunsaturated fatty acid fetal-maternal relationships. **Pediatr Res**, v. 52, n. 5, p. 750-5, 2002.

CETIN, I.; MANDÒ, C.; CALABRESE, S. Maternal predictors of intrauterine growth restriction. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 16, n. 3, p. 310-9, 2013.

CHERNYAVSKY, I.L.; LEACH, L.; DRYDEN, I.L.; JENSEN, O.E. Transport in the placenta: homogenizing haemodynamics in a disordered medium. **Philos Trans A Math Phys Eng Sci**, v. 369, n. 1954, p. 4162-82, 2011.

CROSS, J.C. Placental function in development and disease. **Reprod Fertil Dev**, v. 18, n. 1-2, p. 71-6, 2006.

CUNNINGHAM, P.; McDERMOTT, L. Long chain PUFA transport in human term placenta. **J Nutr**, v. 139, n. 4, p. 636-9, 2009.

DUBÉ, E.; GRAVEL, A.; MARTIN, C.; DESPAROIS, G.; MOUSSA, I.; ETHIER-CHIASSON, M.; FOREST, J.C.; GIGUÈRE, Y.; MASSE, A.; LAFOND, J. Modulation of fatty acid transport and metabolism by maternal obesity in the human full-term placenta. **Biol Reprod,** v. 87, n. 1, p. 1-11, 2012.

DUTTA-ROY, A.K. Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. **Am J Clin Nutr**, v. 71, suppl. 1, p. S315-22, 2000.

DUTTA-ROY, A.K. Transport of fatty acids across the human placenta: a review. **Prog Lipid Res,** v. 48, n. 1, p. 52-61, 2009.

FOURNIER, T.; TSATSARIS, V.; HANDSCHUK, K.; EVAIN-BRION, D. PPARs and the placenta. **Placenta**, v. 28, n. 2-3, p. 65-76, 2007.

FOWDEN, A.L.; FORHEAD, A.J.; COAN, P.M.; BURTON, G.J. The placenta and intrauterine programming. **J Neuroendocrinol**, v. 20, n. 4, p. 439-50, 2008.

FOWDEN, A.L.; WARD, J.W.; WOODING, F.P.; FORHEAD, A.J.; CONSTANCIA, M. Programming placental nutrient transfer capacity. **J Physiol**, v. 572, pt. 1, p. 5-15, 2006.

GACCIOLI, F.; LAGER, S.; POWELL, T.L.; JANSSON, T. Placental transport in response to altered maternal nutrition. **J Dev Orig Health Dis**, v. 4, n. 2, p. 101-15, 2013.

GIL-SÁNCHEZ, A.; KOLETZKO, B.; LARQUÉ, E. Current understanding of placental fatty acid transport. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 15, n. 3, p. 265-72, 2012.

LUCKMAN, P.D.; HANSON, M.A.; COOPER, C.; THORNBURG, K.L. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. **N Engl J Med**, v. 359, n. 1, p. 61-73, 2008.

HADLEY, K.B.; RYAN, A.S; FORSYTH, S.;, GAUTIER, S.; SALEM, N. The essentiality of arachidonic acid in infant development. **Nutrients**, v. 8, n.4, p. E216, 2016.

HAGGARTY, P. Placental regulation of fatty acid delivery and its effect on fetal growth - a review. **Placenta**, v. 23, suppl A, p. S28-38, 2002.

HAGGARTY, P. Fatty acid supply to the human fetus. **Annu Rev Nutr**, v. 21, n. 30, p. 237-55, 2010.

HANEBUTT, F.L.; DEMMELMAIR, H.; SCHIESSL, B.; LARQUÉ, E.; KOLETZKO, B. Long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) transfer across the placenta. **Clin Nutr**, v. 27, n. 5, p. 685-93, 2008.

HEIRD, W.C.; LAPILLONNE, A. The role of essential fatty acids in development. **Annu Rev Nutr**, v. 25, p. 549-71, 2005.

HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E. **Epidemiology in medicine**. USA: Little, Brown and Company, 1987. 383p.

HERRERA, E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. **Endocrine**, v. 19, n. 1 p. 43-55, 2002.

HERRERA, E.; DESOYE, G. Maternal and fetal lipid metabolism under normal and gestational diabetic conditions. **Horm Mol Biol Clin Investig**, 2015. [Epub ahead of print].

HOLDSWORTH-CARSON, S.J.; LIM, R.; MITTON, A.; WHITEHEAD, C.; RICE, G.E.; PERMEZEL, M.; LAPPAS, M. Peroxisome proliferator-activated receptors are altered in pathologies of the human placenta: gestational diabetes mellitus, intrauterine growth restriction and preeclampsia. **Placenta**, v.31, n. 3, p. 222-9, 2010.

IMHOFF-KUNSCH, B.; BRIGGS, V.; GOLDENBERG, T.; RAMAKRISHNAN, U. Effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid intake during pregnancy on maternal, infant, and child health outcomes: a systematic review. **Paediatr Perinat Epidemiol**, v. 26, suppl 1, p. 91-107, 2012.

INNIS, S.M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. **Brain Res,** v. 1237, p. 35-43, 2008.

INNIS, S.M. Essential fatty acid transfer and fetal development. **Placenta**, v. 26, suppl. A, p. S70-7, 2005.

INNIS, S.M. Fatty acids and early human development. **Early Hum Dev**, v. 83, n. 12, p. 761-6, 2007.

INNIS, S. M. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. **Am J Clin Nutr**, v. 99, n. 3, p. 734S-41S, 2014.

INNIS, S.M. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. **J Pediatr**, v. 143, suppl. 4, p. S1-8, 2003.

INSTITUTE OF MEDICINE - IOM. National Academy of Science. Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines. Washington: National Academy Press, 2009.

JANSSON, T.; MYATT, L.; POWELL, T.L. The role of trophoblast nutrient and ion transporters in the development of pregnancy complications and adult disease. **Curr Vasc Pharmacol**, v. 7, n. 4, p. 521-33, 2009.

JANSSON, T.; POWELL, T.L. Placental nutrient transfer and fetal growth. **Nutrition**, v. 16, n. 7, p. 500-2, 2000.

JANSSON, T.; POWELL, T.L. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. **Clin Sci**, v. 113, n. 1, p. 1-13, 2007.

JAUNIAUX, E.; VAN OPPENRAAIJ, R.H.; BURTON, G.J. Obstetric outcome after early placental complications. **Curr Opin Obstet Gynecol**, v. 22, n. 6, p. 452-7, 2010.

JAWERBAUM, A.; CAPOBIANCO, E. Effects of PPAR activation in the placenta and the fetus: implications in maternal diabetes. **Placenta**, v. 32, suppl. 2, p. S212-17, 2011.

JOHN, R.; HEMBERGER, M. A placenta for life. **Reprod Biomed Online**, v. 25, n. 1, p. 5-11, 2012.

JONES, H.N.; POWELL, T.L.; JANSSON, T. Regulation of placental nutrient transport-a review. **Placenta**, v. 28, n. 8-9, p. 763-74, 2007.

JONES, M.L.; MARK, P.J.; MORI, T.A.; KEELAN, J.A.; WADDELL, B.J. Maternal dietary omega-3 fatty acid supplementation reduces placental oxidative stress and increases fetal and placental growth in the rat. **Biol Reprod**, v. 88, n. 2, p. 37, 2013.

KAZANTZIS, M.; STAHL, A. Fatty acid transport proteins, implications in physiology and disease. **Biochim Biophys Acta**, v. 1821, n. 5, p. 852-7, 2012.

KEMP, M.W.; SAITO, M.; NEWNHAM, J.P.; NITSOS, I.; OKAMURA, K.; KALLAPUR, S.G. Preterm birth, infection, and inflammation advances from the study of animal models. **Reprod Scie**, v. 17, n. 7, p. 619-28, 2010.

KUHN, D.C.; CRAWFORD, M. Placental essential fatty acid transport and prostaglandin synthesis. **Prog Lipid Res**, v. 25, n. 1-4, p. 345-53, 1986.

LAGER, S.; POWELL, T.L. Regulation of nutrient transport across the placenta. **J Pregnancy**, v. 2012, n. 2012, p. 1-14, 2012.

LAGER, S.; JANSSON, N.; OLSSON, A.L.; WENNERGREN, M.; JANSSON, T.; POWELL, T.L. Effect of IL-6 and TNF-α on fatty acid uptake in cultured human primary trophoblast cells. **Placenta,** v. 32, n. 2, p. 121-7, 2011.

LAPPAS, M. Effect of pre-existing maternal obesity, gestational diabetes and adipokines on the expression of genes involved in lipid metabolism in adipose tissue. **Metabolism,** v. 63, n. 2, p. 250-62, 2014.

LARQUÉ, E.; DEMMELMAIR, H.; BERGER, B.; HASBARGEN, U.; KOLETZKO, B. In vivo investigation of the placental transfer of (13) C-labeled fatty acids in humans. **J Lipid Res**, v. 44, n. 1, p. 49-55, 2003.

LARQUÉ, E.; DEMMELMAIR, H.; KLINGLER, M.; DE JONGE, S.; BONDY, B.; KOLETZKO, B. Expression pattern of fatty acid transport protein-1 (FATP-1), FATP-4 and heart-fatty acid binding protein (H-FABP) genes in human term placenta. **Early Hum Dev**, v. 82, n. 10, p. 697-701, 2006b.

LARQUÉ, E.; RUIZ-PALACIOS, M.; KOLETZKO, B. Placental regulation of fetal nutrient supply. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 16, n. 3, p. 292-7, 2013.

LARQUÉ, E.; DEMMELMAIR, H.; GIL-SÁNCHEZ, A.; PRIETO-SÁNCHEZ, M.T.; BLANCO, J.E.; PAGÁN, A.; FABER, F.L.; ZAMORA, S.; KOLETZKO, B. Placental transfer of fatty acids and fetal implications. **Am J Clin Nutr**, v. 94, suppl. 6, p. 1908S-13S, 2011.

LARQUÉ, E.; KRAUSS-ETSCHMANN, S.; CAMPOY, C.; HARTL, D.; LINDE, J.; KLINGLER, M.; DEMMELMAIR, H.; CAÑO, A.; GIL, A.; BONDY, B.; KOLETZKO, B. Docosahexaenoic acid supply in pregnancy affects placental expression of fatty acid transport proteins. **Am J Clin Nutr**, v. 84, n. 4, p. 853-61, 2006a.

LAUSMAN, A.; KINGDON, J.; MATERNAL FETAL MEDICINE COMMITTEE; GAGNON, R.; BASSO, M.; BOS, H.; CRANE, J.; DAVIES, G.; DELISLE, M.F.; HUDON, L.; MENTICOGLOU, S.; MUNDLE, W.; OUELLET, A.; PRESSEY, T.; PYLYPJUK, C.; ROGGENSACK, A.; SANDERSON, F. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis, and management. **J Obstet Gynaecol Can**, v. 35, n. 8, p. 741-57, 2013.

LAZAR, M.A. PPAR gamma, 10 years later. **Biochimie**, v. 87, n.1, p. 9-13, 2005.

LE, H.D.; MEISEL, J.A.; DE MEIJER, V.E; GURA, K.M.; PUDER, M. The essentiality of arachidonic acid and docosahexaenoic acid. **Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids**, v. 81, n. 2-3, p. 165-70, 2009.

LONGO, S.; BOLLANI, L.; DECEMBRINO, L.; DI COMITE, A.; ANGELINI, M.; STRONATI, M. Short-term and long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). **J Mater Fetal Neonatal Med**, v. 26, n. 3, p. 222-5, 2013.

MAGNUSSON, A.L.; WATERMAN, I.J.; WENNERGREN, M.; JANSSON, T.; POWELL, T.L. Triglyceride hydrolase activities and expression of fatty acid binding proteins in the human placenta in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and diabetes. J **Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 9, p. 4607-14, 2014.

MAGNUSSON, A.L.; WATERMAN, I.J.; WENNERGREN, M.; JANSSON, T.; POWELL, T.L. Triglyceride hydrolase activities and expression of fatty acid binding proteins in the

human placenta in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and diabetes**. J Clin Endocrinol Metab,** v. 89, n. 9, p. 4607-14, 2004.

MAGNUSSON-OLSSON, A.L.; HAMARK, B.; ERICSSON, A.; WENNERGREN, M.; JANSSON, T.; POWELL, T.L. Gestational and hormonal regulation of human placental lipoprotein lipase. **J Lipid Res**, v. 47, n. 11, p. 2551-61, 2006.

MANNING, F.A. Crescimento intra-uterino retardado: diagnóstico, prognóstico e conduta, com base em métodos ultra-sonográfico. In: FLEISCHER, A.C. et al. **Ultra-sonografia em obstetrícia e ginecologia: princípios e prática**. 5 ed. Rio de Janeiro: Revinter, p. 517-36, 2000.

MARION-LETELLIER, R.; SAVOYE, G.; GHOSH, S. Fatty acids, eicosanoids and PPAR gamma. **Eur J Pharmacol**, 2015. [Epub ahead of print].

MARSÁL, K. Obstetric management of intrauterine growth restriction. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, v. 23, n. 6, p. 857-70, 2009.

MATSUDA, S.; KOBAYASHI, M.; KITAGISHI, Y. Expression and function of PPARs in placenta. **PPAR Res**, v. 2013, p. 256508, 2013.

MISHIMA, T.; MINER, J.H.; MORIZANE, M.; STAHL, A.; SADOVSKY, Y. The expression and function of fatty acid transport protein-2 and -4 in the murine placenta. **PLoS One**, v. 6, n. 10, p. e25865, 2011.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T.V.N.; TORCHIA, M.G. **Embriologia básica**, v. 8, p. 76-78, 2013.

MOREIRA NETO, A.R.; MARTINS CÓRDOBA, J.C.; PERAÇOLI, J.C. Etiologia da restrição de crescimento intrauterino (RCIU). **Comun Ciênc Saúde**, v. 22, suppl. 1, p.21-30, 2011.

MOUSIOLIS, A.V.; KOLLIA, P.; SKENTOU, C.; MESSINIS, I.E. Effects of leptin on the expression of fatty acid-binding proteins in human placental cell cultures. **Mol Med Rep**, v. 5, n. 2, p. 497-502, 2012.

MYREN, M.; MOSE, T.; MATHIESEN, L.; KNUDSEN, L.E. The human placenta – an alternative for studying foetal exposure. **Toxicol in Vitro**, v. 21, n. 7, p. 1332-40, 2007.

NEERHOF, M.G.; THAETE, L.G.; The fetal response to chronic placental insufficiency. **Semin Perinatol**, v. 32, n. 3, p. 201-5, 2008.

NEY, J.G.; KOURY, J.C.; AZEREDO, V.B.; CASIMIRO-LOPES, G.; TRUGO N.M.; TORRES, A.G. Associations of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and tocopherols with proxies of membrane stability and subcutaneous fat sites in male elite swimmers. **Nutr Res**, v. 29, n. 9, p. 623-30, 2009.

PADILHA, P.C.; ACCIOLY, E.; DA VEIGA, G.V; BESSA, T.C; DELLA-LIBERA, B; NOGUEIRA, J.L.; ALVES, P.D; SOUZA JUNIOR, P.R.; SAUNDERS, C. The performance of various anthropometric assessment methods for predicting low birth weight in pregnant women. **Rev Bras Saude Mater Infant**, v. 9, n. 2, p. 197-206, 2009.

PEDREIRA, C.E.; PINTO, F.A.; PEREIRA, S.P.; COSTA, E.S. Birth weight patterns by gestational age in Brazil. **An Acad Bras Cienc**, v. 83, n. 2, p. 619-25, 2011.

PERCY, P.; VILBERGSSON, G.; PERCY, A.; MANSSON, J.E.; WENNERGREN, M.; SVENNERHOLM, L. The fatty acid composition of placenta in intrauterine growth retardation. **Biochim Biophys Acta**, v. 1084, n. 2, p. 173-7, 1991.

RENISK, R. Intrauterine growth restrictrion. **Obstet Gynecol**, v. 99, n. 3, p. 490-6, 2002.

RODIE, V.A.; YOUNG, A.; JORDAN, F.; SATTAR, N.; GREER, I.A.; FREEMAN, D.J. Human placental peroxisome proliferator-activated receptor delta and gamma expression in healthy pregnancy and in preeclampsia and intrauterine growth restriction. **J Soc Gynecol Investig**, v. 12, n. 5, p. 320-9, 2005.

ROLAND, M.C.; FRIIS, C.M.; VOLDNER, N.; GODANG, K.; BOLLERSLEV, J.; HAUGEN, G.; HENRIKSEN, T. Fetal growth versus birthweight: the role of placenta versus other determinants. **PLoS One**, v.7, n. 6, p. e39324, 2012.

ROSEN, E.D.; SARRAF, P.; TROY, A.E.; BRADWIN, G.; MOORE, K.; MILSTONE, D.S.; SPIEGELMAN, B.M.; MORTENSEN, R,M.. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. **Mol Cell**, v. 4, n. 4, p. 611-7, 1999.

ROSEN, E.D.; MACDOUGALD, O.A. Adipocyte differentiation from the inside out. Nat **Rev Mol Cell Biol**, v. 7, n. 12, p. 885-96, 2006.

RUSTERHOLZ, C.; HAHN, S.; HOLZGREVE, W. Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia. **Semin Immunopathol,** v. 29, p. 151-162, 2007.

SÁ, R.A.M.D., OLIVEIRA, C.A.D., PEIXOTO-FILHO, F. M., LOPES, L.M. Predição e prevenção com crescimento intrauterino restrito. **Femina**, v. 37, n. 9, p. 512-14, 2009.

SANDOVICI, I.; HOELLE, K.; ANGIOLINI, E.; CONSTÂNCIA, M. Placental adaptations to the maternal-fetal environment: implications for fetal growth and developmental programming. **Reprod Biomed Online**, v. 25, n. 1, p. 68-89, 2012.

SANKARAN, S.; KYLE, P.M. Aetiology and pathogenesis of IUGR. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, v. 23, n. 6, p. 765-77, 2009.

SCHAIFF, W.T.; BARAK, Y.; SADOVSKY, Y. The pleiotropic function of PPAR gamma in the placenta. **Mol Cell Endocrinol**, v. 249, n. 1-2, p. 10-5, 2006.

SCHAIFF, W.T.; CARLSON, M.G.; SMITH, S.D.; LEVY, R.; NELSON, D.M.; SADOVSKY, Y. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma modulates differentiation of human trophoblast in a ligand-specific manner. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 85, n. 10, p. 3874-81, 2000.

SCHAIFF, W.T.; KNAPP, F.F.Jr.; BARAK, Y.; BIRON-SHENTAL, T.; NELSON, D.M.; SADOVSKY, Y. Ligand-activated peroxisome proliferator activated receptor gamma alters placental morphology and placental fatty acid uptake in mice. **Endocrinology**, v. 148, n. 8, p. 3625-34, 2007.

SCHAIFF, W.T.; BILDIRICI, I.; CHEONG, M.; CHERN, P.L,; NELSON, D.M.; SADOVSKY, Y. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and retinoid X receptor signaling regulate fatty acid uptake by primary human placental trophoblasts. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 90, n. 7, p. 4267-75, 2005.

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Prog Lipid Res**, v. 47, n.2, p. 147-55, 2008.

SILVEIRA, M.F.; BARROS, F.C.; SCLOWITZ, I.K.; DOMINGUES. M.R.; MOTA, D. M.; FONSECA, S.S; MITIDIERI. A.; LESTON, A.R.; KNIGHT, H.E.; CHEIKH, I.L. Implementation of the INTERGROWTH-21st Project in Brazil. **BJOG**, v. 120, suppl. 2, p. 81-6, 2013.

STORCH, J.; CORSICO, B. The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins. **Annu Rev Nutr**, v. 28, p. 73-95, 2008.

STRICKLAND, S.; RICHARDS, W.G. Invasion of the trophoblasts. **Cell**, v. 71, n. 3 p.355-7, 1992.

SUNG, I.K.; VOHR, B.; OH, W. Growth and neurodevelopmental outcome of very low birth weight infants with intrauterine growth retardation: comparison with control subjects matched by birth weight and gestational age. **J Pediatr**, v. 123, n. 4, p. 618-24, 1993.

SYMONDS, M.E.; SEBERT, S.P.; HYATT, M.A.; BUDGE, H. Nutritional programming of the metabolic syndrome. **Nat Rev Endocrinol**, v.5, n. 11, p. 604-10, 2009.

TABANO, S.; ALVINO, G.; ANTONAZZO, P.; GRATI, F.R.; MIOZZO, M.; CETIN, I. Placental LPL gene expression is increased in severe intrauterine growth-restricted pregnancies. Pediatr Res, v. 59, n. 2, p. 250-3, 2006.

THAME, M.; OSMOND, C.; BENNETT, F.; WILKS, R.; FORRESTER, T. Fetal growth is directly related to maternal anthropometry and placental volume. **Eur J Clin Nutr**, v. 58, n. 6, p. 894-900, 2004.

TONTONOZ, P.; SPIEGELMAN, B.M. Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. **Annu Rev Biochem**, v. 77, p. 289-312, 2008.

VAN EIJSDEN, M.; HORNSTRA, G.; VAN DER WAL, M.F.; VRIJKOTTE, T.G.; BONSEL, G.J. Maternal n-3, n-6, and trans fatty acid profile early in pregnancy and term birth weight: a prospective cohort study. **Am J Clin Nutr**, v. 87, n. 4, p. 887-95, 2008.

VON BECKERATH, A.K.; KOLLMANN, M.; ROTKY-FAST, C.; KARPF, E.; LANG, U.; KLARITSCH, R. Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction. **Am J Obstet Gynecol**, v. 208, n. 2, p. 130.e1-6, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Child Growth Standards. Head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age: Methods and development. Geneva: World Health Organization, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Child Growth Standards: length/height-for-age, weight-for-age, weightfor-length, weight-for-height and body mass index. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Technical Report Series, 854. Geneva: WHO, 1995.

XU, H.E.; LAMBERT, M.H.; MONTANA, V.G.; PARKS, D.J.; BLANCHARD, S.G.; BROWN, P.J.; STERNBACH, D.D.; LEHMANN, J.M.; WISELY, G.B.; WILLSON, T.M.; KLIEWER, S.A.; MILBURN, M.V. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. **Mol Cell**, v. 3, n. 3, p. 397-403,1999.

ZEGHARI, N.; VIDAL, H.; YOUNSI, M.; ZIEGLER, O.; DROUIN, P.; DONNER, M. Adipocyte membrane phospholipids and PPAR-gamma expression in obese women: relationship to hyperinsulinemia. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 279, n. 4, p. E736-43, 2000.

ZHAN, T.; POPPELREUTHER, M.; EHEHALT, R.; FÜLLEKRUG, J. Overexpressed FATP1, ACSVL4/FATP4 and ACSL1 increase the cellular fatty acid uptake of 3T3-L1 adipocytes but are localized on intracellular membranes. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. e45087, 2012.

ANEXOS

ANEXO - A

Parecer de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Maternidade Escola da UFRJ (CEP/MEC Número 14/2010 em 09/08/2010)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Maternidade-Escola
Comitê de Ética em Pesquisa

Rio de Janeiro, 09 de agosto de 2010.

Informamos a V. Sª. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro – CEP/ME-UFRJ, constituído nos Termos da Resolução CNS nº 196/96 e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao Protocolo de Pesquisa, conforme abaixo, discriminado:

PROTOCOLO DE PESQUISA CEP/ME-UFRJ - Nº. 14/2010
CAAE: 0014.0.361.000-10

Título do Projeto: *"Etapa complementar do projeto: Proteínas placentárias e ácidos graxos de cadeia longa na determinação do Crescimento Intrauterino Restrito (CIUR): estudo biomolecular".*

Classificação no Fluxograma: Grupo III

Pesquisador Responsável: Maria das Graças Tavares do Carmo

Instituições onde o trabalho de campo se realizará: Maternidade Escola da UFRJ e Instituto de Nutrição Josué de Castro / CCS - UFRJ

Data de recebimento no CEP/ME-UFRJ: 21/07/2010

Data da apreciação: 09/08/2010

Parecer do CEP/ME-UFRJ: **APROVADO**

Ressaltamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (*item VII.13.d., da resolução CNS/MS Nº 196/96*).

Esclarecemos, que o CEP/ME-UFRJ deverá ser informado de quaisquer fatos relevantes (incluindo mudanças no método) que alterem o curso normal do estudo, devendo o pesquisador justificar caso, o mesmo venha a ser interrompido.

Dr. Ivo Basílio da Costa Júnior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Maternidade-Escola da UFRJ
CRM: 52.50381-1 SIAPE: 1186327

Rua das Laranjeiras, 180 - Laranjeiras - CEP: 22240-003 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil
Tel.: (21) 2285-7935 – Tel/Fax: (21) 2205-9064 - E-mail: pesquisa@me.ufrj.br

ANEXO - B

Maternidade escola

Termo de consentimento livre e esclarecido para gestantes adultas

Registro:_____ Prontuário:_____
Nome:_____
Entrevistador:_____ Data:_____/_____/_____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este documento lhe dará informações e pedirá o seu consentimento para participar de uma pesquisa que está sendo desenvolvida pelo no laboratório de Bioquímica Nutricional do INJC/UFRJ e pela Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O estudo pretende estudar a transferência de substâncias originadas dos alimentos da mãe para o bebê durante a gestação e o impacto nas condições ao nascer do seu filho. O objetivo final do estudo é contribuir para a melhoria das rotinas de assistência pré-natal, que pode contribuir para a melhoria da saúde das mulheres e dos seus filhos.

Os procedimentos da pesquisa incluem a coleta no momento do parto do sangue do cordão umbilical e 5g da porção central de placentas, após a separação do cordão umbilical. Tal procedimento é totalmente indolor para você ou seu filho. Além disso, após o término do parto será coletado uma pequena amostra do seu sangue por técnico competente, diminuindo assim, os incômodos que poderiam ser causados por essa atividade.

Será realizada uma consulta ao seu cartão da gestante ou seu prontuário e o do seu filho também e, faremos uma pequena entrevista na qual perguntaremos seus dados pessoais, sobre o pré-natal e sobre a sua dieta no período da gestação.

Esclarecemos que o risco decorrente de sua participação no estudo é mínimo, tendo em vista que os procedimentos empregados serão realizados por pessoal capacitado e que todo o material utilizado na coleta das amostras de sangue e placenta, serão feitas com o uso de material descartável.

Como benefícios pela sua participação, informamos que a partir da avaliação feita na sua dieta, faremos uma orientação direcionada às suas necessidades. Informamos ainda que não há remuneração ou recompensa decorrente da sua participação do estudo.

As informações que serão coletadas serão mantidas em sigilo, não sendo divulgadas em qualquer hipótese. Os resultados do estudo serão apresentados em conjunto, em congressos ou publicações em revistas científicas, impossibilitando a identificação dos indivíduos que participaram do mesmo.

Você tem o direito de pedir outros esclarecimentos sobre a pesquisa e de se recusar a participar ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo na assistência na Unidade.

Declaro estar ciente das informações deste Termo de Consentimento e concordo em participar deste estudo.

Rio de Janeiro,_____/_____/_____.

Participante: _____

*Coordenador da Pesquisa:*_____

Contatos com o coordenador: tel. 2562.6596. e-mail: tcarmo@editema.com.br
Endereço: Centro de Ciências da Saúde, bloco J, 2º andar, laboratório 21. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Ilha do Fundão. RJ.

ANEXO - C

Protocolo de Pesquisa

Data: ___/___/ ___ Data do parto: ___/___/___
Nº Prontuário: _____
Nome: _____
Telefone: _____
Endereço: _____

3) Qual o seu estado civil? ( )solteira ( )casada ( )separada ( ) viúva ( ) vive com o companheiro

4) Como classifica sua cor de pele? _____

5) Cor da pele de acordo com a observação do entrevistador:
( )branca ( )negra ( )parda ( )amarela

6) Qual a sua escolaridade? _____

7) Qual a sua profissão? _____

8) Qual o seu tipo de moradia? ( ) Própria ( ) Alugada ( ) Outros: _____

9) Tem condições de saneamento na moradia? ( ) Sim ( ) Não

10) Quantas pessoas moram na casa? _____

11) Qual a renda familiar total? _____ (escrever NS quando não souber informar)

AVALIAÇÃO OBSTÉTRICA E DE ASSISTÊNCIA PRÉ-NATAL

12) Idade ginecológica: _____ anos

13) Idade gestacional na 1ª consulta _____ (DUM/USG) **13.1)** DUM: ____/____/____

14) Idade gestacional atual: _____

15) Gestação de feto único? Sim ( ) Não ( )

16) É a sua primeira gestação? ( ) Sim
( ) Não (Seguir para a pergunta 16.1/16.2/16.3/16.4)
16.1) Quantas gestações anteriores? _____
16.2) Qual o intervalo das gestações? _____
16.3) Quantos partos realizados? _____
16.4) Qual o intervalo entre os partos? _____

Dados coletados dos prontuários:
17) Histórico de gestações anteriores:
( ) abortos espontâneos ( ) abortos provocados ( ) natimortos ( ) neomortos

18) Intercorrências maternas atual:
( ) Diabetes ( )Hipertensão/DHEG ( )HIV positiva ( )sem intercorrências ( )outros

19) Intercorrências fetais da gestação atual:
( ) malformação ( ) anencefalia ( )baixo peso ao nascer - <2,5Kg ( ) prematuridade - <37 semanas ( ) sem intercorrências ( ) outros

20) Qual o número de consultas da assistência pré-natal? _____

21) Qual o número de consultas de assistência nutricional pré-natal? _____

22) Com que idade gestacional teve a sua primeira consulta de assistência pré-natal? _____

23) Faz uso de algum medicamento? ( ) Sim, quais? _____
( ) Não

24) Faz uso de algum tipo de suplemento nutricional? ( ) Sim, quais? _____
( ) Não

25) Você fuma? ( ) Sim ( ) Não

26) Tem o hábito de consumir bebida alcoólica ou de fazer uso de outro tipo de droga?
( ) Sim ( ) Não

DADOS ANTROPOMÉTRICOS DA GESTANTE

27) Peso pré-gestacional: ____Kg **28)** Estatura:___cm **29)** IMCpré-gestacional: _____Kg/m^2

30) Classificação do estado nutricional pg: _____

31) Peso pré-parto: _____Kg **32)**IMC atual: _____ Kg/m^2

33) Ganho de peso gestacional total: _____Kg
34) Classificação do estado nutricional atual: _____

DADOS ANTROPOMÉTRICOS DO RECÉM-NASCIDO

35) Data de nascimento: ____/____/____

36) Sexo: ( )Feminino ( )Masculino **37)** Tipo de parto:( )cesariana ( )normal ( )fórceps

38) Idade gestacional ao nascimento: _____ semanas **39)** Peso da placenta: _____g

40) Peso ao nascer (até 1 hora após o nascimento): _____g

41) Comprimento: _____ cm **42)** Perímetro cefálico: _____cm **43)**P/I: _____

ANEXO – D

Rotinas assistenciais da maternidade escola da UFRJ - RCIU

OBSTETRÍCIA

CRESCIMENTO INTRA-UTERINO RESTRITO (CIUR)

Rotinas Assistenciais da Maternidade-Escola
da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Define o feto que não consegue atingir o seu potencial genético de crescimento. O CIUR representa um grupo heterogêneo, onde a maior parte corresponde a fetos constitucionalmente pequenos, mas saudáveis. Pode estar associado ou não a várias etiologias. Demanda diagnóstico correto, visando estabelecer rotina para o acompanhamento pré-natal e durante o parto.

O ganho ponderal depende de fatores que provocam redução no seu potencial de crescimento intraútero.

O crescimento fetal se processa em três fases – Figura 1.

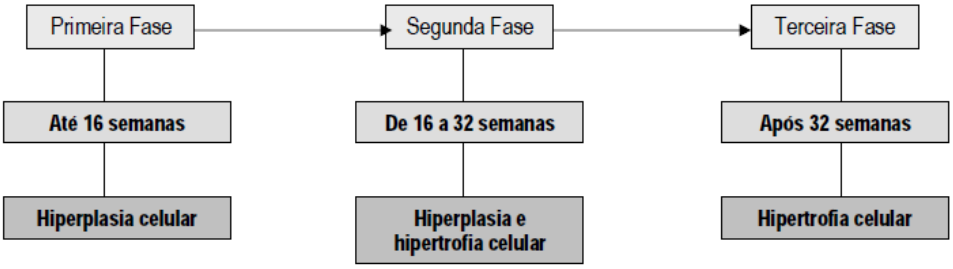

Figura 1 – Características das fases do crescimento fetal

CLASSIFICAÇÃO & ETIOLOGIA

É estabelecida conforme Figura 2.

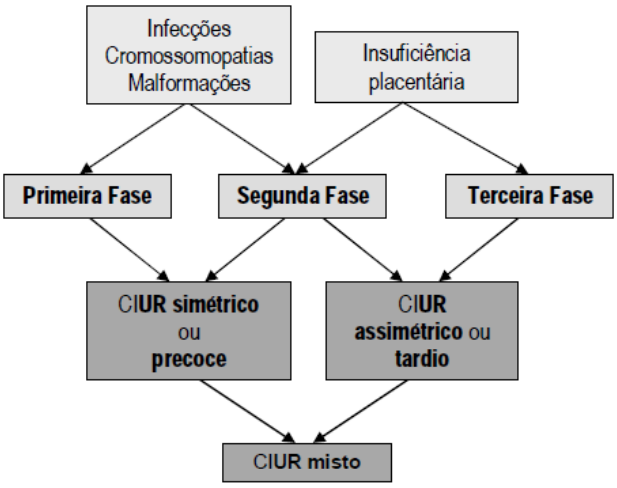

Figura 2 - Classificação do CIUR em função da sua etiologia e da época em que acomete o crescimento fetal

DIAGNÓSTICO – Figura 3.

- Identificar fatores de risco.
- Atentar para o correto diagnóstico da idade gestacional.
- Rastrear doenças próprias e intercorrentes na gestação.
- Avaliar o ganho ponderal materno
- Avaliar a medida do fundo uterino e acompanhar seu crescimento.

- Ultrassonografia
  - Predição do peso fetal.
  - Medida da circunferência abdominal fetal (CA) – 2 aferições com intervalo de 14 dias.
  - Estimativa do volume de líquido amniótico (vLA).
  - Estudo da maturidade placentária.
  - A combinação da circunferência abdominal fetal e do Doppler da artéria umbilical (AU) constitui o melhor procedimento para diagnosticar o CIUR de causa placentária.

- Procedimentos complementares – dependem da história clínica e dos achados sonográficos
  - Ultrassonografia morfológica (para excluir anomalia fetal)
  - Cariótipo fetal
  - Sorologia Materna e PCR no LA para pesquisa de infecção.
  - Diagnóstico preditivo e precoce de pré-eclâmpsia (Doppler de artérias uterinas).
  - Diagnóstico das trombofilias.
  - Diagnóstico da insuficiência placentária (Doppler de artéria umbilical)

CONDUTA NA GESTAÇÃO

- Repouso relativo e controle dietético.
- Desestimular fumo, álcool e drogas ilícitas.
- Tratar as doenças de base, se existentes.
- Ultrassonografia nível II para estudo morfológico do concepto.
- Dopplerfluxometria – avaliação da circulação feto-placentária
- Acelerar a maturidade pulmonar fetal, se indicado (ver rotina específica)

CIUR SIMÉTRICO OU PRECOCE

- Estudo genético do concepto (ver rotina específica)
- Pesquisar infecção fetal (Líquido amniótico: PCR; sangue de cordão: IgM, IgG)
- Solicitar Ecocardiografia fetal.
- Avaliar a vitabilidade fetal (ver rotina específica).
- Monitorar o crescimento fetal pela ultrassonografia.

CIUR ASSIMÉTRICO OU TARDIO

- Monitorar o crescimento fetal pela ultrassonografia.
- Avaliar a vitabilidade fetal (ver rotina específica).
- Interromper a gestação caso haja indicação materna ou sofrimento fetal.

CONDUTA NO PERIPARTO

A periodicidade das avaliações fetais aqui propostas deverão SEMPRE levar em consideração a evolução/deterioração da doença materna de base, caso ela exista.

O manejo das gestações complicadas por CIUR de deverá ser baseado na realização do Doppler e Perfil Biofísico Fetal - Figura 4.

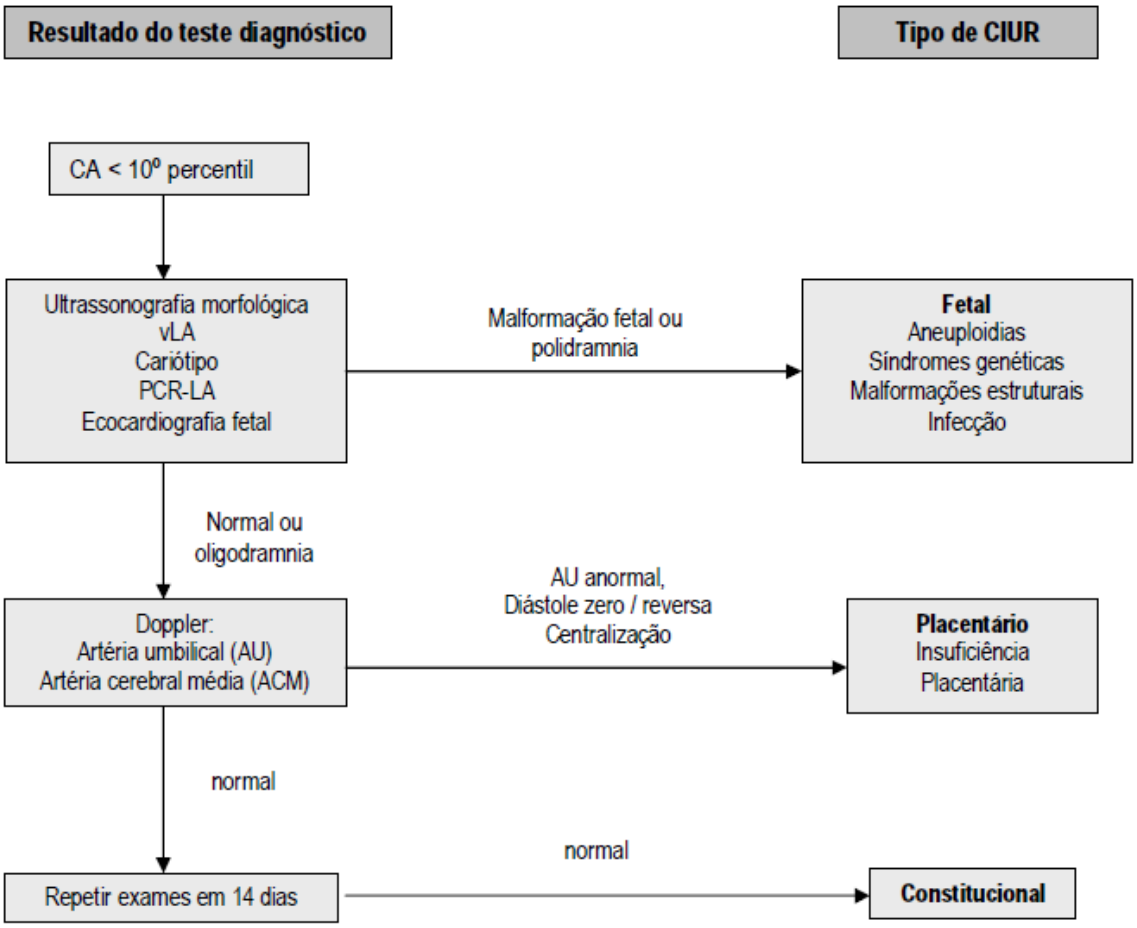

Figura 3 - Diagnóstico do CIUR (modificado de Baschat *et al.*, 2007)

CIUR POUCO PROVÁVEL		
CA, CC/CA, AU, ACM, DV, PBF e vLA normais	Axfixia extremamente rara Baixo risco para SFA	Parto por indicação obstétrica ou materna
CIUR CONFIRMADO		
CA < 10º p, CC/CA aumentado, AU anormal, ACM e DV normais, PBF 8/10 e vLA normal	Asfixia extremamente rara Aumenta risco de SFA	Parto por indicação obstétrica ou materna Doppler semanal PBF semanal
Redistribuição de fluxo		
CIR critérios acima, ACM anormal, DV normal PBF 8/10 e vLA normal	Asfixia rara Hipoxemia possível Aumenta risco de SFA	Parto por indicação obstétrica ou materna Doppler semanal PBF 2x / semana
Redistribuição de fluxo significativo		
AU DZ / DR DV normal PBF 6/10 e oligodramnia	Hipoxemia comum Acidemia ou axfixia possível Início comprometimento fetal	> 34 semanas : parto < 32 semanas: internação, corticosteróides, Doppler e PBF diários
Comprometimento fetal		
DV PI anormal PBF 6/10 e oligodramnia	Hipoxemia comum Acidemia ou axfixia provável	> 34 semanas : parto < 32 semanas: internação, corticosteróides e individualização Doppler e PBF diários/ até 3 x/dia
Descompensação fetal		
Critérios acima DV onda A ausente ou reversa Pulsatilidade veia umbilical PBF <6/10 e oligodramnia	Instabilidade cardiovascular, distúrbio metabólico, natimortalidade possível, mortalidade perinatal elevada independente dos cuidados imediatos	Parto imediato em centro de cuidados terciário com UTI-Neonatal especializada

Figura 4 - Algoritmo do manejo periparto no CIUR (Modificado de Baschat & Hecher, 2004)