UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CENTRO DE CIENCIAS DA SAÚDE

INSITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO

EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS ENVOLVIDAS NA TRANSFERÊNCIA DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA E ESSENCIAIS PARA O FETO EM GESTAÇÕES COM RETARDO DE CRESCIMENTO INTRAUTERINO

Renata Pereira Assumpção

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN), do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Nutricionais.

Orientadora: Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo

Coorientadora: Profª Drª Marta Citelli Reis

Rio de Janeiro
Setembro/2014

EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS ENVOLVIDAS NA TRANSFERÊNCIA DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA E ESSENCIAIS PARA O FETO EM GESTAÇÕES COM RETARDO DE CRESCIMENTO INTRAUTERINO

Renata Pereira Assumpção

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO DO INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS NUTRICIONAIS.

Examinada por:

_____
Profª Drª Susana Ortiz Costa
Doutora em Química Biológica/UFRJ

_____
Profª Drª Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha
Doutora em Ciências/UNIFESP

_____
Profª Drª Tatiana El-Bacha Porto
Doutora em Química Biológica/UFRJ

_____
Profª Drª Eliane Lopes Rosado
Doutora em Alimentos e Nutrição/UFV

_____
Profª Dr°Renato Augusto Moreira Sá
Doutor em Ginecologia e Obstetrícia/UFMG

RIO DE JANEIRO, RJ –BRASIL

OUTUBRO/2014

Assumpção, Renata Pereira.

Expressão de proteínas placentárias envolvidas na transferência de ácidos graxos de cadeia longa e essenciais para o feto em gestações com retardo de crescimento intrauterino / Renata Pereira Assumpção.– Rio de Janeiro: INJC, 2014.

xx f. 91. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Maria das Graças Tavares do Carmo e Marta Citelli Reis.

Tese (doutorado) -- UFRJ INJC - Programa de Pós-graduação em Nutrição, 2014.

Referências bibliográficas: f. 89-98.

1. Ácidos Graxos Essenciais - análise. 2. Proteínas de Ligação a Ácido Graxo - análise. 3. Placenta. 4. Retardo do Crescimento Fetal - etiologia. 5. Ácidos Graxos Essenciais - sangue. 6. Nascimento a Termo. 7. Humano. Nutrição - Tese. I. Carmo, Maria das Graças Tavares do. II. Reis, Marta Citelli III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, INJC, Programa de Pós-graduação em Nutrição. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob a orientação da Profa. Dra. Maria das Graças Tavares do Carmo e coorientação da Profa. Dra. Marta Citelli Reis, com o auxílio financeiro da FAPERJ - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro e do CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Dedicatória

A Deus

Aos meus amados pais, Roberto e Solange, por todo amor e me apoiar, para que eu pudesse trilhar minha vida dentro do que julguei ser o melhor.

Ao meu Filho Matheus por toda paciência, nos momentos de ausência, amor, por dar sentido a minha vida e tornar meus dias mais felizes.

Ao meu amado irmão Roberto, pelo apoio, incentivo e amor incondicional durante toda esta jornada e momentos difíceis, nos quais somente aqueles que realmente nos amam e conhecem conseguem fazê-lo.

Ao meu marido João Carlos, pelo o carinho e apoio, principalmente no fim deste processo, me trazendo a tranquilidade que eu necessitava.

Agradecimentos

Durante os últimos anos, eu convivi com inúmeras pessoas que possibilitaram esta conquista e eu não poderia deixar de agradecê-las aqui. Assim, agradeço...

A Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo, pela amizade, paciência, dedicação e, acima de tudo, pelo carinho e compreensão que se fizeram tão necessários em muitos momentos pessoais difíceis que enfrentei ao longo desta trajetória.

A Profª Drª. Marta Citelli Reis, pela amizade, paciência, carinho e por ter me possibilitado descobrir um novo caminho no conhecimento cientifico na fascinante área da biologia molecular.

A professora Fátima Sardinha, pelo apoio durante toda esta trajetória e por ter sido revisora desta tese, trabalho que realizou com muito carinho.

Ao meu amigo Henrique que esteve comigo em muitos momentos desta jornada, me apoiando, ajudando e incentivando.

A Aline a minha eterna gratidão pelo apoio e pela imensa contribuição e auxílio na obtenção dos meus resultados.

Aos funcionários do laboratório de análises clínicas da Maternidade Escola da UFRJ, pela receptividade, apoio e por proporcionar um ambiente de trabalho muito agradável. Aos médicos e enfermeiros do centro obstétrico que tornavam o dia-a-dia da coleta de dados muito menos desgastante. Pessoas totalmente dispostas a ajudar.

Aos membros dos laboratórios de endocrinologia molecular da biofísica e da química biológica na bioquímica que permitiram o uso de seus equipamentos para a realização desta pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Bioquímica Nutricional, pelo agradável convívio, com agradecimento ao Mário, Flávia Spreafico e Henrique Rhamnusia, Flávia Dias e Dani Mucci.

Ao Instituto de Nutrição, por ter me proporcionado condições para o desenvolvimento deste projeto.

Aos professores Susana Ortiz, Eliane Rosado, Gilson Teles e Renato Sá, por aceitaram dividir seus conhecimentos comigo.

E, principalmente, às gestantes, que aceitaram participar do estudo.

O meu muito obrigada

Resumo da tese apresentada ao PPGN/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do **Título de Doutor em Ciências Nutricionais**.

EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS PLACENTÁRIAS ENVOLVIDAS NA TRANSFERÊNCIA DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA LONGA E ESSENCIAIS PARA O FETO EM GESTAÇÕES COM RETARDO DE CRESCIMENTO INTRAUTERINO

Renata Pereira Assumpção
Outubro / 2014

Orientadores: Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo
Profª Drª Marta Citelli Reis

RESUMO

O transporte placentário adequado de ácidos graxos (AG) é de crucial importância para o crescimento e desenvolvimento normal do feto. O objetivo do presente estudo foi investigar em mães e seus recém-nascidos, com e sem crescimento intrauterino restrito (CIUR), o perfil de AG na placenta e nos compartimentos materno-fetais eritrocitários assim como a expressão gênica de proteínas envolvidas na captação e/ou transporte de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (AGPI-CL) e ácidos graxos essenciais (AGE). 23 gestantes participaram do estudo: 15 foram incluídas no grupo controle e 8, cujos recém-nascidos foram diagnosticados com CIUR, sem enfermidades associadas e intercorrências clínicas, integraram o grupo CIUR. Informações sociodemográficas, antropométricas e obstétricas foram obtidas por meio de consulta aos prontuários ou entrevista. Os ésteres de AG, obtidos após extração, saponificação e metilação dos lipídios das amostras sanguíneas e de placenta, foram quantificados por cromatografia gás-líquido. A expressão dos genes que codificam as proteínas envolvidas na captação e/ou transporte de AGPI-CL e AGE foi avaliada por PCR em Tempo Real nas placentas de ambos os grupos. Os resultados foram expressos como média ± desvio-padrão em mg/100 mg de AG totais. Os teores dos AG foram correlacionados com a expressão das proteínas transportadoras e associados às variáveis antropométricas indicativas de crescimento do neonato. Os resultados mostraram que gestantes CIUR ganharam menos peso ao longo da gestação em comparação as gestantes

controle (peso final = 9,76 ± 4,0Kg versus 15,3 ± 2,4Kg, respectivamente). O peso da placenta também foi inferior nas gestantes CIUR (464 ± 39g) em relação às controles (645 ± 100g, p<0,0001). O peso e o perímetro cefálico ao nascer foram menores no grupo CIUR em relação ao grupo controle (p<0,0001). Em placentas de gestantes CIUR, observamos maior expressão das FATP (1, 2 e 4), FABP (3 e 4), FABPpm, CD36 e da LPL, sem alteração na concentração de AGE e de AGPI-CL nos lipídios totais neste tecido. Em eritrócitos de gestantes e recém-nascidos do grupo CIUR, identificamos menores concentrações de ácido araquidônico (AA), ácido docosahexaenoico (DHA) assim como razão DHA/linolênico mais reduzida em comparação ao grupo controle. Esses resultados apontam que em gestações que envolvem CIUR a composição da dieta materna e, consequentemente, a concentração de AG nos eritrócitos destas mulheres, podem influenciar a disponibilidade fetal de AGPI-CL. Além disso, observou-se que menores concentrações de AGPI-CL na circulação materna aumentaram o mRNA das proteínas responsáveis pela captação desses AG nos trofoblastos, bem como o mRNA das proteínas transportadoras citoplasmáticas intracelulares, que facilitam o seu transporte para a circulação fetal. Futuras investigações são necessárias para verificar a quantidade das proteínas traduzidas a partir dos mRNA transcritos e o mecanismo que promove essa regulação.

Palavras-chave: ácidos graxos, mRNA de proteínas transportadoras de ácidos graxos, crescimento intrauterino restrito.

PROTEIN EXPRESSION PLACENTAL INVOLVED IN ACID TRANSFER OF FATTY LONG CHAIN AND ESSENTIAL TO THE FETUS IN PREGNANCIES WITH INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION

Renata Pereira Assumpção
October/2014

Advisors: Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo
Profª Drª Marta Citelli Reis

ABSTRACT

Suitable placental transport of fatty acids (FA) is crucial for normal growth and development of the fetus. The aim of this study was to investigate in mothers and their newborns with and without intrauterine growth restriction (IUGR), the AG's profile in the placenta and in erythrocyte maternal-fetal compartments as well as gene expression of proteins involved in the uptake and / or transport of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs) and essential fatty acids (EFA). 23 pregnant women participated in the study: 15 were in the control group and 8, whose newborns were diagnosed with IUGR, without associated diseases and clinical complications, integrated IUGR group. Sociodemographic, anthropometric and obstetric data were obtained from hospital records or interview. Esters AG, obtained after extraction, saponification and methylation of lipids in blood and placental samples were quantitated by gas-liquid chromatography. The expression of genes that encode proteins involved in the uptake and / or transport of LC-PUFAs and AGE was assessed by RT-PCR of placenta in both groups. Results were expressed as mean ± standard deviation in mg / 100 mg of total AG. The content of the AG were correlated with the expression of proteins associated with the carriers and indicative anthropometric variables of newborn growth. The results showed that IUGR pregnant women gained less weight during pregnancy compared pregnant women control (final weight = 9.76 ± 4.0kg versus 15.3 ± 2.4 kg, respectively). Placental weight was also lower in IUGR patients (464 ± 39g) compared to

controls (645 ± 100 g, p <0.0001). The weight and head circumference at birth were lower in IUGR group compared to the control group (p <0.0001). In IUGR placentas of pregnant women, we observed increased expression of FATP (1, 2 and 4), FABP (3 and 4), FABPpm, CD36 and LPL, no change in the concentration of AGE and LC-PUFAs in the total lipids in this tissue. In erythrocytes of pregnant women and newborn IUGR group, we identified lower arachidonic acid (AA) concentrations, docosahexaenoic acid (DHA) as well as reason DHA/linolenic lower compared to the control group. These results indicate that in pregnancies involving IUGR maternal diet composition and, consequently, of FA concentration in erythrocytes of these women may influence the availability of fetal LC-PUFAs. Furthermore, it was observed that lower concentrations of LC-PUFAs in the maternal circulation increased the mRNA of the proteins responsible for the uptake of these fatty acids in the trophoblasts, as well as the intracellular cytoplasmic mRNA transport proteins which facilitate its transport to the fetal circulation. Further investigations are required to check the amount of protein translated from the mRNA transcripts and the mechanism that promotes such regulation.

Keywords: fatty acids, protein mRNA carriers of fatty acids, intrauterine growth restriction.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA - *arachidonic acid*, Ácido araquidônico

AG - *Fatty acids*, Ácido graxo

AGEs - *Essential fatty acids,* Ácidos graxos essenciais

AGNE - *Nonesterified fatty acids*, Ácidos graxos não esterificados

AGO - *Oleic Fatty Acid,* Ácido graxo oleico

AGPI - Ácidos graxos poli-insaturados

AGS - *Saturated fatty acids*, Ácidos graxos saturados

AIG - Adequado para idade gestacional

ALA - α-*linolenic acid,* ácido alfa linolênico

BPN - Baixo peso ao nascer

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

DHA - *docosahexaenoic acid*, ácido docasahexaenoico

DPA - *docosapentaenoic acid*, ácido docosapentaenóico

EDTA - *ethylenediaminetetraacetic acid,* ácido etilenodiaminotetracético

EL - *endothelial lipase*, lipase endotelial

EPA - *eicosapentaenoic acid,* ácido eicosapentaenóico

FABP - *fatty acid binding protein,* proteína de ligaçãode ácidos graxos

FABPpm - *plasma membrane fatty acid binding protein,* proteína de ligaçãode ácidos graxos de membrana plasmática

FAT - *fatty acid translocase,* transportador de ácido graxo

FATP - *fatty acid translocase protein*, proteína transportadora de ácido graxo

GAPDH - glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

HIV - *human immunodeficiency vírus*, vírus da imunodeficiência humana

HSL - *sensitive lipase hormone*, lipase hormônio sensível

IG - idade gestacional

IMC - *body mass index*, Índice de massa corporal

IOM - *Institute of Medicine,* Instituto de medicina

LA - *linoleic acid*, ácido linoleico

LPL - *lipoprotein lipase,* lipase lipoproteica

MS - Ministério da Saúde

OMS - Organização Mundial da Saúde

PIG - Pequeno para idade gestacional

PN - Peso ao nascer

PNDS - Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde

PPARð - *Receptor activator of peroxisome proliferator – ð,* Receptor activator of peroxisome proliferator - ð

PPG - Peso pré-gestacional

RNAm - *Messenger RNA,* RNA mensageiro

TCLE - termo de consentimento livre e esclarecido

TG - *triglyceride,* triglicerídeo

UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

VLDL - *Very-low-density lipoprotein,* lipoproteína de muito baixa densidade

WHO - *World Health Organization,* Organização Mundial de Saúde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema resumido do desenvolvimento embrionario humano..... 28

Figura 2 - Imagem da placenta humana fresca e esquemática: representação do lado materno e fetal 29

Figura 3 - Diagrama esquemático de transporte da placenta..... 31

Figura 4 - Estrutura e função transportadora da placenta humana..... 33

Figura 5 - Fatores maternos e fetais que influenciam no CIUR..... 59

Figura 6 - Fatores etiológicos, celulares e tipos de CIUR..... 43

Figura 7 - Percentual da diferença da conversão da conversão de DHA/ALA do sangue materno para o sangue do cordão do grupo controle CIUR..... 62

Figura 8 -Expressão relativa das proteínas **FATP** 1, 2, 3 e 4 após análise densitométrica e determinada por RT 64

Figura 9 -Expressão relativa da proteína **FABP 3 (H** PCR, para amostras de tecidos placentários de gestantes controles e CIUR 65

Figura 10 - Expressão relativa das proteínas FABPpm, e FAT CD/36 após análise densitométrica e determinado por RT 66

Figura 11 - Expressão relativa da proteína Lipase Lipoprotéica (LPL) após análise densitométrica, determinado por RT 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Oligonucleotídeos utilizados na análise de PCR em tempo real **54**

Tabela 2 – Características maternas associadas ao nascimento de recém-nascidos CIUR e AIG, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013 ..... **57**

Tabela 3 – Caracterização do estado antropométrico dos recém-nascidos e variáveis do parto..... **58**

Tabela 4 - Composição dos ácidos graxos nos lipídios totais extraídos dos eritrócitos do sangue materno e do cordão umbilical de gestantes controle e CIUR (mg/100mg) **60**

Tabela 5 - Composição dos ácidos graxos nos lipídios totais em placentas do grupo CIUR e do grupo controle (mg/100mg) **63**

Tabela 6 - Correlação entre os ácidos graxos extraídos da placenta, sangue do cordão umbilical e sangue materno e as proteínas transportadoras de AG da placenta **69**

Tabela 7- Correlação entre características da placenta e dos recém-nascidos e as proteínas transportadoras de ácidos graxos..... **70**

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Maternidade Escola da UFRJ..... 102

Anexo B – Termo de consentimento livre e esclarecido para gestantes adultas..... 104

Anexo C - Protocolo de Pesquisa..... 106

Anexo D – Rotinas assistenciais da maternidade escola da UFRJ - CIUR..... 110

SUMÁRIO

1. Introdução 21

2. Referencial teórico 25

2.1 A placenta humana 25

2.2 Transporte placentário 30

2.3 A importância do transporte de lipídios placentário para o desenvolvimento fetal 34

2.4 Crescimento Intrauterino Restrito (CIUR) 36

3.Justificativa 44

4. Objetivos 45

4.1 Objetivo geral 45

4.2 Objetivos específicos 45

5. Métodos 46

5.1 Captação dos participantes e questões éticas 46

5.2 Critérios de seleção 47

5.3 Informações sociodemográficas 48

5.4 Avaliação antropométrica materna 48

5.5 Avaliação antropométrica do recém-nascido 49

5.6 Diagnostico do CIUR 50

5.7 Coleta e armazenamento de amostras biológicas 50

5.8 Análise de ácidos graxos na placenta, sangue do cordão umbilical e sangue materno 51

5.9 Análise da expressão dos genes que codificam as proteínas envolvidas no transporte de ácidos graxos na placenta 52

5.10 Análise estatística 54

6. Resultados 56

7. Discussão 71

8. Conclusão 88

Referências ....., 90

Anexos 105

1. Introdução

O crescimento intrauterino restrito (CIUR) é definido como um desvio do padrão de crescimento fetal, caracterizado como abaixo do esperado, constituindo intercorrência obstétrica com elevados índices de morbidade e mortalidade perinatais (BERNSTEIN et al., 2000; RESNIK, 2002).

Vários fatores influenciam o crescimento fetal durante a gestação, incluindo a complexa interação entre o potencial de crescimento genético, a habilidade do sistema materno-placentário em transferir nutrientes para o feto bem como o meio endócrino (LAGER; POWELL, 2012).

Há evidências epidemiológicas e experimentais sugestivas de que os fetos que evoluem para a restrição de crescimento têm maior predisposição para doenças cardiovasculares, hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus tipo 2 na idade adulta (SMITH; OZANNE, 2006; ROSENBERG, 2008; ROSS; BEALL, 2008; CETIN et al., 2009).

Alguns transportadores de nutrientes são especificamente regulados na placenta (PARDI et al., 1992; TABANO et al., 2006; JONES; POWELL; JANSSON, 2009). Alterações nos processos placentários de transporte de nutrientes podem influenciar diretamente o crescimento fetal. Os mecanismos moleculares que regulam este transporte de nutrientes são complexos e ainda pouco conhecidos. Ademais, diferentes fatores também influenciam este processo, como os fluxos sanguíneos no cordão umbilical e útero-placentário, a área disponível para trocas de substâncias, o metabolismo placentário, assim

como a atividade e a expressão de proteínas transportadoras específicas na barreira placentária. Há relatos de que a transferência de moléculas que apresentam permeabilidade expressiva, tais como o oxigênio e o dióxido de carbono, é particularmente influenciada pela redução no fluxo sanguíneo (LAGER; POWELL, 2012).

Durante o último trimestre da gestação, o crescimento intrauterino é acompanhado por grande deposição de lipídios nos tecidos fetais (HERRERA; LASUNCIÓN, 2011), especialmente de ácidos graxos essenciais (AGE) (linoleico, LA e alfa linolênico, ALA) e de seus metabólitos de cadeia longa (ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa, AGPI-CL) com 20 e 22 átomos de carbono, incluindo os ácidos araquidônico (AA) e docosahexaenoico (DHA). Esses ácidos graxos (AG) são constituintes estruturais das membranas celulares, cumprem funções metabólicas e de reserva energética, e são essenciais para o crescimento e desenvolvimento fetal adequado, exercendo ações principalmente, no cérebro em desenvolvimento (INNIS, 2008). Os AGPI-CL são direcionados ao feto, via transporte placentário, uma vez que a biossíntese desses lipídios, a partir dos seus precursores (AGE), não ocorre eficientemente na placenta (INNIS, 2008).

Os AG provenientes da circulação materna estão presentes como AG livres, ligados à albumina ou incorporados em lipoproteínas, principalmente as VLDL (*very low density lipoprotein*, lipoproteínas de muito baixa densidade). Por ação da enzima lipase lipoproteica (LPL -*lipoprotein lipase*) placentária, estes AG são dissociados das lipoproteínas e liberados para captação placentária (GIL-SÁNCHEZ et al., 2011). A LPL hidrolisa os triglicerídeos (TG) dos quilomicrons e VLDL e, portanto, atua na etapa inicial da transferência dos AG para a placenta, cuja captação pode ocorrer por difusão simples ou por meio de proteínas transportadoras (HANEBUTT et al., 2008).

As proteínas transportadoras, mediadoras da transferência de AG, são expressas nos microvilos e na membrana plasmática basal dos sinciciotrofoblastos da placenta (CETIN; ALVINO, 2009). A expressão dos vários transportadores de nutrientes pode ser regulada por sinalizadores moleculares (citocinas e hormônios, entre outros) advindos da gestante, do feto e da própria placenta (LAGER; POWELL, 2012).

Existem diferentes proteínas envolvidas no transporte de AG na placenta, incluindo as proteínas de ligação (pFABPpm, *placental plasma membrane fatty acid binding proteins*), as proteínas de transporte de ácidos graxos (FATP 1-6, *fatty acid transport protein*) e a ácido graxo translocase (FAT, *fatty acid translocase*), também denominada glicoproteína CD36 (HANEBUTT et al., 2008). Adicionalmente, as FATP agem em conjunto com as enzimas citossólicas, acil CoA sintetase (ACS, *acyl-CoA sinthase*) de ácidos graxos de cadeia longa, que impedem a saída dos AG da célula, convertendo-os em derivados acil-CoA, para posterior esterificação ou oxidação (DUTTAROY, 2009). Uma vez no interior do citoplasma, os AG se ligam às FABP, podendo seguir diferentes caminhos, dentre eles, oxidação para produzir energia; compor lipídios placentários e formar prostaglandinas; reesterificação parcial para formar TG, fosfolipídios e ésteres de colesterol ou, ainda, sofrer alongação, dessaturação, sendo liberados na membrana basal em direção à circulação fetal (CUNNINGHAM; MCDERMOTT, 2009).

Há referências de que neonatos com CIUR nascem com reduzidos estoques de lipídios, reduzida expressão de alguns transportadores placentários de nutrientes e menores proporções de AGPI-CL (AA e DHA) no sangue fetal, comparativamente aos adequados em crescimento (VILBERGSSONG et al., 1991; CETIN et al., 2002). Não foram identificados estudos que tenham avaliado, conjuntamente, as concentrações de AG na placenta, nos

eritrócitos maternos e do cordão umbilical e a expressão de diferentes proteínas envolvidas com o transporte placentário de AGPI-CL, comparando gestantes com e sem CIUR.

A investigação acerca dos mecanismos envolvidos na transferência placentária de AGPI-CL, nas situações que envolvem CIUR, pode contribuir para maior compreensão desses processos, somando esforços no sentido de subsidiar a eleição de intervenções destinadas a minimizar os efeitos adversos à saúde associados às gestações que envolvam situações desta natureza.

2. Referencial teórico

2.1 A placenta humana

A placenta é um órgão transitório materno-fetal, que permite a transferência de metabólitos para o feto, por meio de estruturas especializadas. Esse anexo embrionário, presente somente nos mamíferos, consiste em componentes maternos e fetais, essenciais para o desenvolvimento do embrião (CHERNYAVSKY et al., 2011). Agressões que incidam sobre a unidade útero-placentária poderão desviar o feto do seu potencial genético de crescimento, determinando CIUR (OLIVEIRA; XAVIER; LANA, 2002).

A formação da placenta se divide em três etapas: nidação (implantação), aderência e invasão. Após a concepção e a fecundação, o ovo se divide, originando o blastocisto. Esta estrutura é constituída por duas camadas de células densas que resultam na formação do embrião (massa celular interna), e também do trofoblasto, que será responsável pela penetração do embrião no interior do endométrio assim como pela organização embrionária da placenta (MOORE KL, PERSAUD TVN, 2008).

O trofoblasto é composto por duas camadas principais: o citotrofoblasto e o sinciciotrofoblasto, que surge da diferenciação do citotrofoblasto (FRIDMAN, 2005). Assim que o blastocisto chega à cavidade uterina, inicia-se o processo de nidação. Os trofoblastos começam a invadir o endométrio, que está sob influência do hormônio progesterona, responsável pelo aumento da espessura dessa membrana que reveste o interior do útero, indispensável para a implantação (KIERSZENBAUM, 2004; KAPLAN, 2008) (**Figura 1**).

Invasão trofoblástica imperfeita, especialmente relacionada ao local de implantação uterina, pode levar à implantação superficial, acarretando perfusão diminuída. Essas alterações estão envolvidas com eventos patológicos associados às gestações com CIUR (BORTOLOTTO et al., 2008; GADONSKI; IRIGOYEN, 2008; GUNDOGAN et al., 2010).

Segundo Garcia (1986), seis dias após a fecundação, o blastocisto adere ao endométrio. À medida que o blastocisto se implanta, o trofoblasto aumenta o seu contato com o endométrio e se diferencia em citotrofoblasto e sinciciotrofoblasto. O sinciciotrofoblasto erosivo invade o tecido conjuntivo endometrial e o blastocisto, vagarosamente, se aprofunda no endométrio. Com a progressão da implantação do blastocisto, é formada uma pequena cavidade embrionária, que é a origem da cavidade amniótica. Em seguida, as células amniogênicas se separam do epiblasto que envolve a cavidade amniótica. O epiblasto forma o assoalho da cavidade amniótica e está, perifericamente, em contato com o âmnio. Concomitantemente, ocorrem mudanças morfológicas no embrioblasto, o que resulta na formação de uma placa bilaminada de células achatadas, chamada disco embrionário, composta pelo hiperblasto e hipoblasto (KAUFMANN; PATERSON; FRANK, 2004). As células do endoderma do saco vitelínico formam uma camada de tecido conjuntivo, denominada mesoderma extraembrionário, que circunda o âmnio e o saco vitelínico. Desta forma, surgem as lacunas, que logo são preenchidas por sangue proveniente dos capilares maternos rompidos e fragmentos celulares do tecido endometrial (CROSS, MICKELSON L, 2008).

O fluido nos espaços lacunares passa, por difusão passiva, ao disco embrionário e fornece nutrientes ao embrião. Os capilares endometriais, em torno do embrião implantado, tornam-se congestos e dilatados, formando sinosoides, que constituem vasos terminais de

paredes delgadas de capilares comuns. Os sinosoides são erodidos pelos sincicitotrofoblastos e o sangue materno flui livremente para o interior das redes lacunares (KAUFMANN; PATERSON; FRANK, 2004).

As células do citotrofoblasto das vilosidades coriônicas proliferam e se estendem através do sinciotrofoblasto, formando uma capa citotrofoblástica, que gradualmente envolve o eixo central do mesênquima, transformando-se em vilosidades coriônicas secundárias. Antes do final da terceira semana da gestação, formam-se as vilosidades terciárias. Adicionalmente, seções citotrofoblásticas desta vilosidade-tronco se unem para formar a capa citotrofoblástica, que é o córion viloso, ou saco coriônico, ligado ao endométrio (SYME *et al*, 2004).

A decídua basal refere-se ao endométrio gravídico, constituindo camada funcional do endométrio da gestante, que se separa do útero após o parto. As três regiões da decídua apresentam nomenclatura relacionada ao local de implantação. A decídua basal é a porção que se encontra abaixo do embrião, formando o componente materno da placenta. A decídua capsular é a região superficial que cobre o concepto. Por fim, a decídua paretal é constituída pela porção restante da decídua (KAUFMANN; PATERSON FRANK, 2004).

As vilosidades coriônicas cobrem todo o saco vitelínico até a oitava semana de gestação, entretanto, com o crescimento desta última estrutura, a decídua capsular é reduzida, comprimindo o seu suprimento sanguíneo. Subsequentemente, ocorre degeneração das vilosidades coriônicas, levando a formação de uma área avascular, dando origem ao córion liso. Ocorre, então, aumento das ramificações das vilosidades associadas à decídua basal, caracterizando o córion viloso (CROSS, MICKELSON L, 2008) (**Figura 1**).

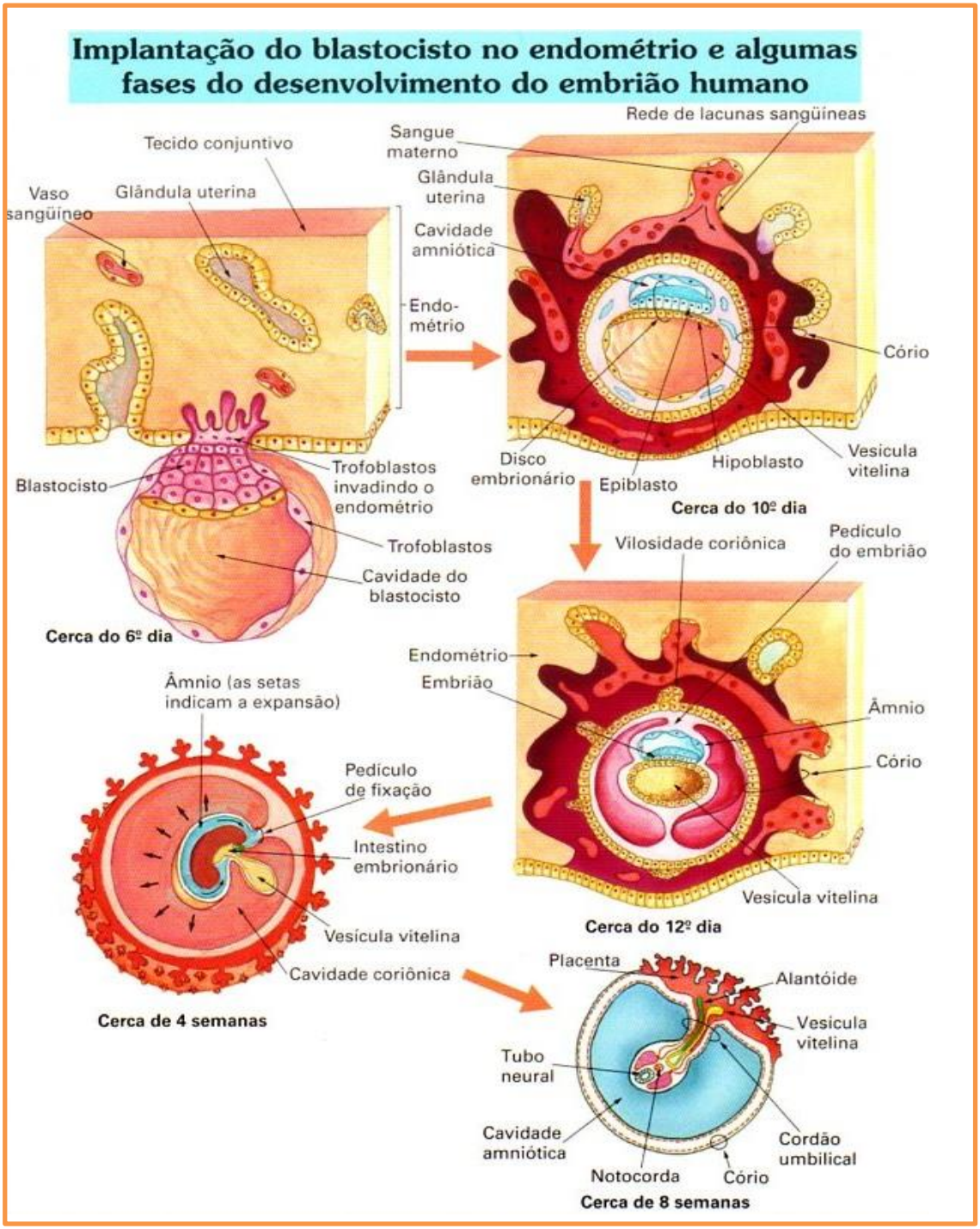

Figura 1. Esquema resumido do desenvolvimento embrionario humano.
Adaptado de: MOORE KL, PERSAUD TVN, 2013.

A placenta apresenta características estruturais e morfológicas que permitem compartimentalizá-la em duas regiões, frequentemente designadas como “lado fetal” e “lado materno” (**Figura 2**). O componente fetal da placenta é formado pelo córion viloso. As vilosidades coriônicas que se originam dessa região projetam-se para o espaço interviloso, que contém sangue materno. O componente materno da placenta é formado pela decídua basal. No final do quarto mês de gestação, a decídua basal está quase completamente substituída pelo componente fetal da placenta (KAPLAN, 2008).

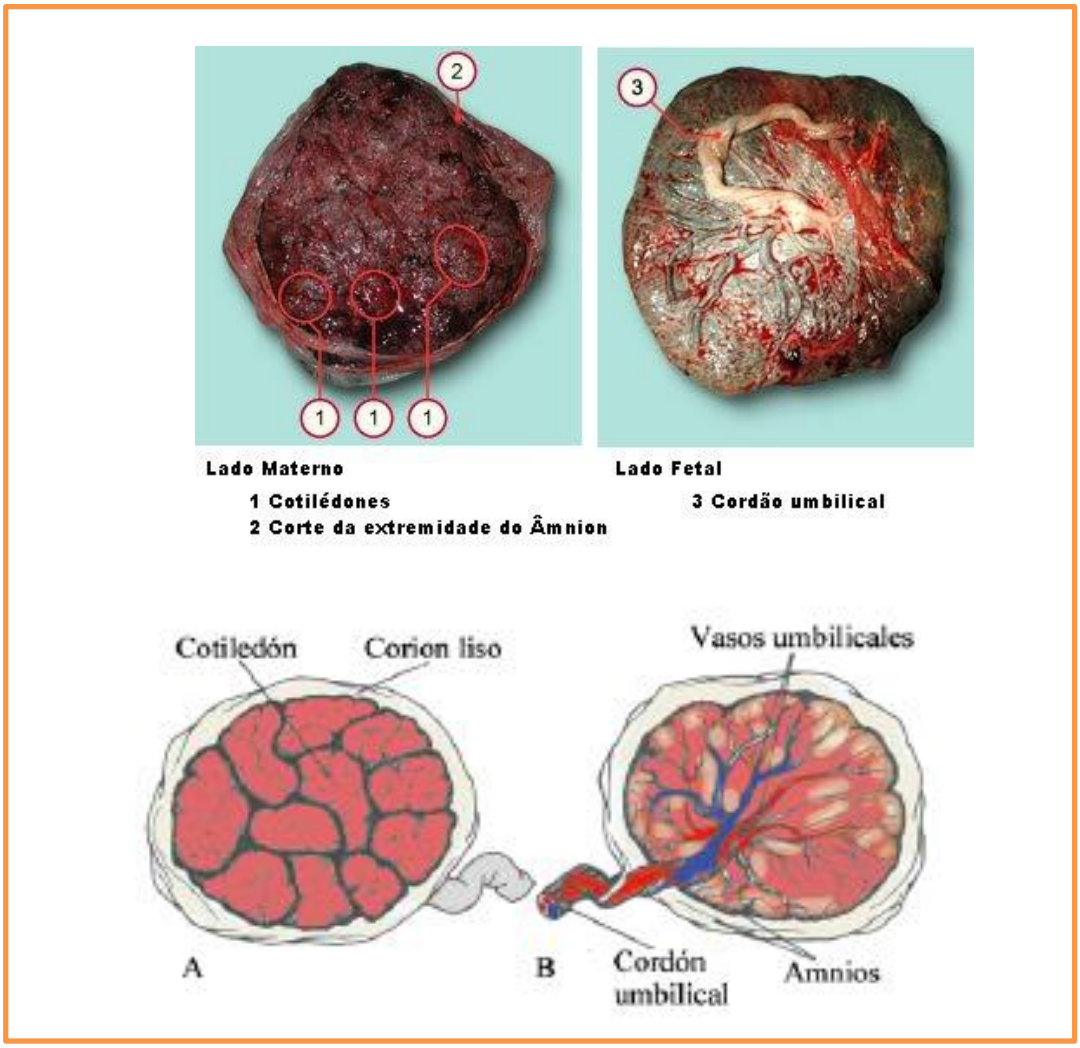

Figura 2. Imagem da placenta humana fresca e esquemática: representação do lado materno e fetal.
Adaptado de: KANAZAWA, 2010.

A placenta apresenta forma discoide, determinada pela área das vilosidades coriônicas. Com a invasão da decídua basal por vilosidades coriônicas, durante a formação da placenta, o teto da decídua sofre erosão, aumentando o espaço interviloso. Esse processo erosivo produz diversas áreas cuneicoides da decídua, denominadas septos da placenta, que se projetam em direção à placa coriônica. Estas áreas dividem a parte central da placenta em regiões conexas irregulares, separando o espaço intersticial em compartimentos denominados cotilédonos. Esses compartimentos comunicam-se livremente, pois os septos não chegam até a placa coriônica. O sangue materno alcança o espaço interviloso por meio das artérias espiraladas da decídua basal (KAPLAN, 2008).

O feto está ligado à porção fetal da placenta por meio do cordão umbilical, que apresenta irrigação venosa e arterial. A artéria é responsável por conduzir o sangue arterial da placenta para o feto, enquanto a veia transporta o sangue venoso do feto para a placenta. Desta forma, são estabelecidas as trocas materno-fetais, sendo a placenta o órgão que viabiliza a intercomunicação entre a gestante e o feto, fundamental para o adequado desenvolvimento do concepto (KAPLAN, 2008).

2.2 Transporte placentário

As principais funções da placenta são fornecer para o feto, em todas as fases do seu desenvolvimento, proteção imunológica, nutrientes e oxigênio, assim como viabilizar a eliminação de produtos do catabolismo fetal e as trocas hormonais (CETIN; ALVINO, 2009).

A transferência de uma substância através da barreira materno-fetal depende da espessura e extensão desta barreira, bem como do gradiente de concentração da substância

ou da presença de mecanismos de transporte ativo (ROSSO, 1981; JONES; POWELL; JANSSON, 2009; DONNELLY; CAMPLING, 2008) (**Figura 3**).

A manutenção de suprimento fetal de glicose e de aminoácidos depende da expressão de proteínas e da sua atividade vinculada aos receptores de membrana. Na transferência de lipídios através da placenta, também estão envolvidas enzimas específicas (lipases), receptores de lipoproteínas bem como de membranas (JONES; POWELL; JANSSON, 2009).

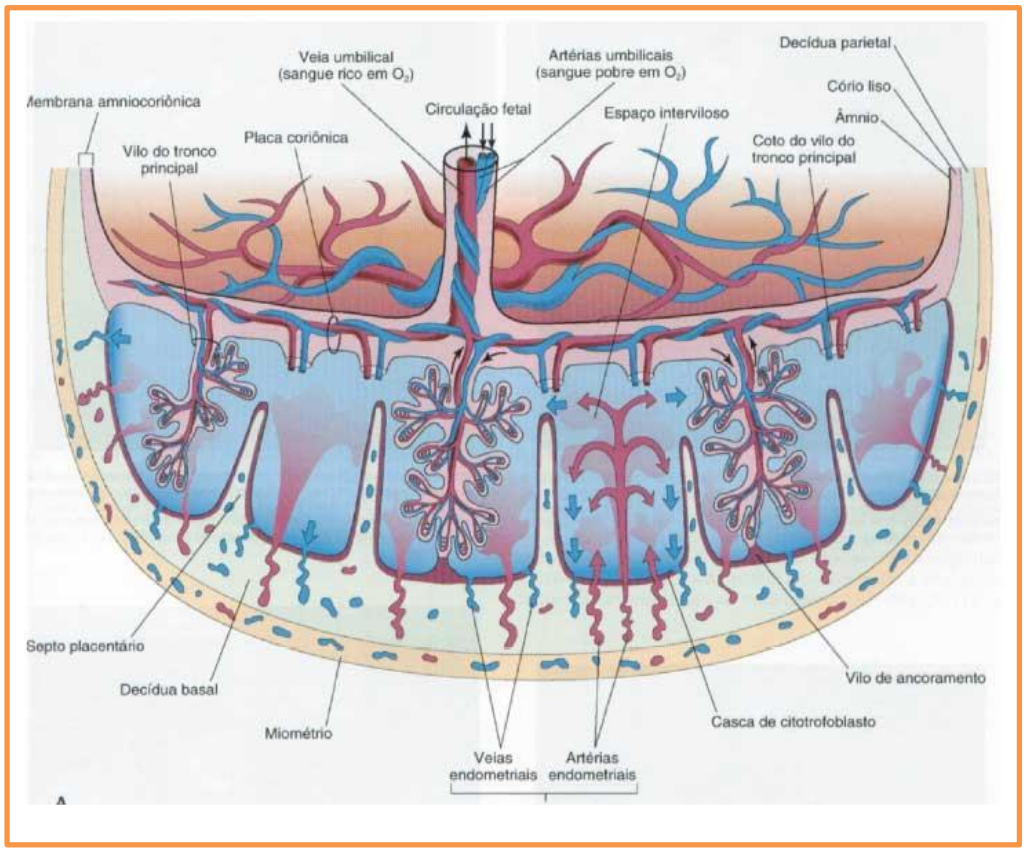

Figura 3. Diagrama esquemático de transporte na placenta. Pode-se observar a relação entre a circulação fetal, a vilosidade corial, o espaço interviloso e as artérias espiraladas endometriais.
Adaptado de CALLEN, 2007

A habilidade da placenta em facilitar a transferência materno-fetal de nutrientes é de crucial importância para o adequado desenvolvimento do feto, que depende desses substratos, derivados da circulação materna (KINPP; AUDUS; SOARES, 1999). A difusão passiva explica parte da transferência placentária desses compostos. No entanto, o requerimento fetal é bastante elevado. Assim, esse mecanismo, isoladamente, não consegue suprir todas as necessidades. Consequentemente, carreadores de nutrientes específicos, denominados proteínas de transporte, localizam-se na placenta e agem facilitando essa transferência, viabilizando a crescente demanda fetal, principalmente no último trimestre da gestação.

Haggarty e colaboradores (1999) encontraram transporte preferencial seletivo para o DHA, em relação ao AA e AGEs. Larqué e colaboradores (2003) estudaram a razão da concentração de diferentes AG na placenta e no plasma materno. Estes autores encontraram razão significativamente maior para o DHA, quando comparado a outros AG (linoleico, oleico e palmítico), corroborando a ocorrência de transferência placentária preferencial de AGPI-CL.

O mecanismo de transporte dos AG na placenta não está completamente elucidado, principalmente no que diz respeito à captação preferencial dos AGPI-CL (TABANO et al., 2006). A captação e transporte desses AG pela placenta envolvem mecanismos mediados por proteínas. São conhecidas diferentes proteínas de membrana atuantes nestes processos. Dentre elas, destacam-se a pFABPpm; a FAT *(fatty acid translocase*), também denominada glicoproteína CD36 e a família de proteínas transportadoras FATP 1-6 (*fatty acid transport protein*) (DUTTAROY, 2009). Adicionalmente a ACS também está envolvida, indiretamente, com o processo de captação de AGPI-CL. Enquanto a FATP age como

transportador de AG, a função da ACS é prevenir o efluxo destes nutrientes por meio do processo de esterificação. FABP-1 e FABP-3 constituem proteínas ligantes de AG, presentes no citosol, cujas exatas funções ainda não são conhecidas, no entanto, já foi sugerido que a interação dessas proteínas pode ser essencial para o efetivo transporte e metabolismo da placenta (DUTTAROY, 2009) (**Figura 4**).

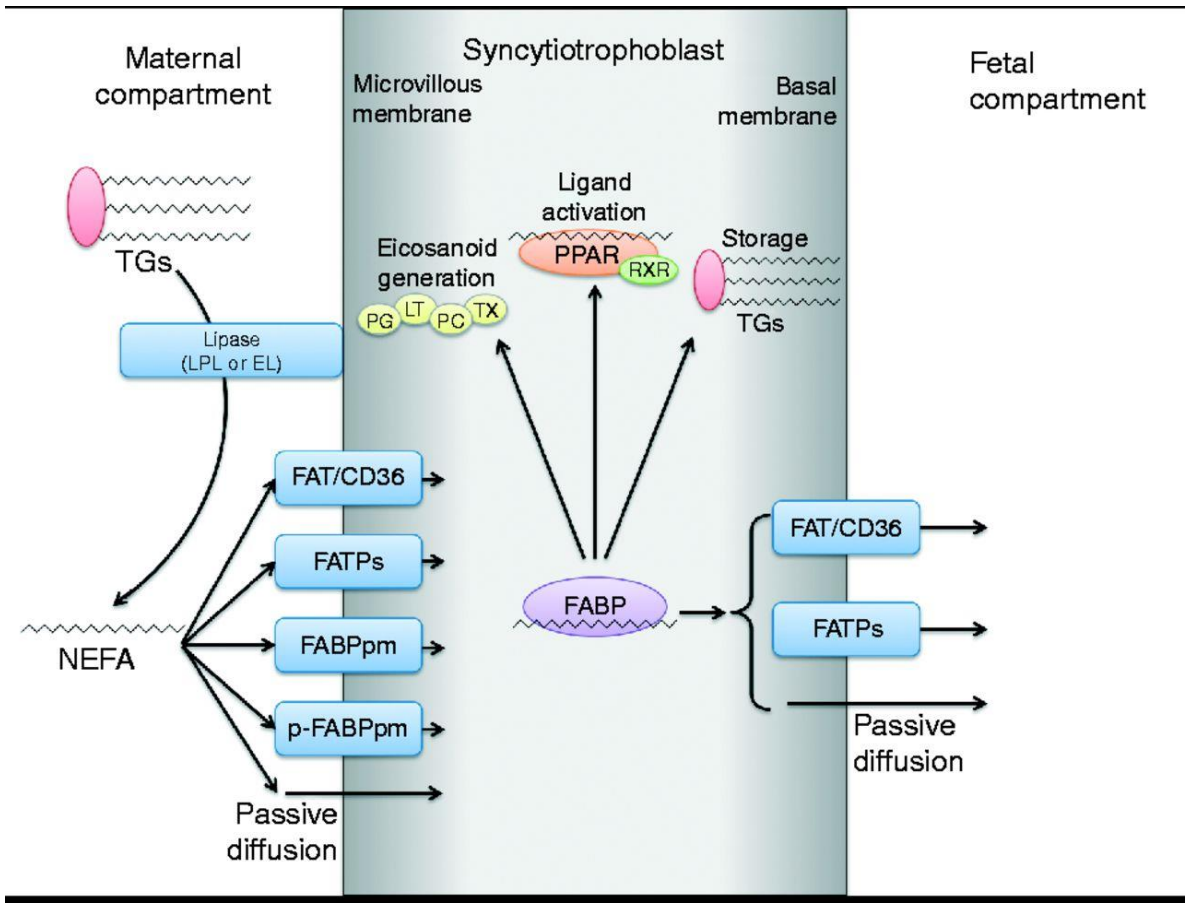

Figura 4. Estrutura e função transportadora da placenta humana. Proteínas se ligam e transportam ácidos graxos dentro do sinciciotrofoblasto polarizado. pFABPpm (*placental plasma membrane fatty acid-binding protein*) – proteína ligadora de ácidos graxos na membrana plasmática placentária. FATP 4 (*fatty acid transport protein*) – proteína transportadora de ácidos graxos. FABP 1, 3, 4 (*fatty acid-binding proteins*) proteína ligadora de AG, responsável pelo transporte intracelular de ácidos graxos de cadeia longa. FAT/CD36 (*fatty acid translocase*) - glicoproteína de membrana envolvida na captação de ácidos graxos. Adaptado de: Megan L Jones et al., 2014.

Larqué et al (2006), observaram que a suplementação de DHA, durante a segunda metade da gestação, resultou em significativa incorporação de DHA nos fosfolipídios da placenta, no momento do parto. Adicionalmente, estes autores detectaram correlação positiva e significativa entre a proporção de DHA e EPA (ácido graxo eicosapentaenoico) nos fosfolipídios da placenta e a expressão do RNAm (*Messenger RNA*) das proteínas FATP-1 e FATP-4. Também foi observado que o conteúdo de DHA nos TG da placenta correlacionou-se positivamente com a expressão gênica de FATP-1, FATP-4, pFABPpm e FAT/CD36 e, ainda, que a expressão da FATP-4 apresentou correlação significativa negativa com o percentual de DHA nos fosfolipídios do plasma do cordão umbilical. Além disso, os autores também demonstraram que elevado percentual de EPA e DHA nos fosfolipídios do plasma materno produz aumento na regulação da expressão de FATP-1 e FATP-4 pela placenta. Esses achados corroboram a importância dessas proteínas na seletividade placentária.

2.3 Importância do transporte de lipídios placentários para o desenvolvimento fetal

A importância dos lipídios na nutrição e desenvolvimento humano é reconhecida há muitas décadas. Durante o último trimestre da gestação, o crescimento intrauterino é acompanhado por grande deposição de lipídios nos tecidos fetais (GIL-SANCHEZ et al., 2011). As necessidades de produção energética também são bem elevadas, uma vez que a energia, além de ser necessária para a manutenção de gradientes eletroquímicos nas membranas celulares do organismo materno, também é essencial para a sustentação das elevadas taxas de síntese de proteínas, carboidratos complexos e lipídios, que são características do crescimento fetal (MULLIS; TONELLA, 2008). Os requerimentos

nutricionais para todos esses processos metabólicos são maiores, desde o do final do segundo trimestre, até metade do terceiro trimestre, quando a taxa de crescimento do feto é muito mais elevada (ENZI et al., 1981).

Os AGE (LA, C18:2 n-6 e ALA, C18:3 n-3) não podem ser sintetizados pelos tecidos dos mamíferos e devem, necessariamente, ser obtidos a partir da ingestão dietética (INNIS, 2007). Esses AGE são fundamentais [para não repetir "essenciais] para o crescimento e desenvolvimento fetal adequado, pois mantêm a fluidez, a permeabilidade e a conformação das membranas fosfolipídicas (HAGGARTY, 2002). Além disso, são precursores de eicosanoides e de AGPI-CL com 20 e 22 átomos de carbono, incluindo os AA (C20:4 n-6), DHA (C22:6 n-3) e o EPA (C20:5 n-3) (HAGGARTY, 2002).

A grande importância dos lipídios para o feto deve-se ao fato de que os AGPI-CL são depositados no cérebro e na retina, em grande quantidade, durante o período de rápido crescimento desses tecidos. Este depósito ocorre no último trimestre da gestação e nos primeiros meses de vida pós-natal (INNIS, 2007). Os AGPI-CL apresentam papel crucial na regulação de vários processos metabólicos, de transporte e excreção e são importantes mediadores intracelulares da expressão gênica de diversas proteínas envolvidas no desenvolvimento (INNIS, 2007).

Antes do nascimento, todos os AG, n-6 e n-3, acumulados pelo feto, provêm da circulação materna por meio da transferência placentária, uma vez que não ocorre a biossíntese de AGPI-CL na placenta (HAGGARTY, 2002). Esses AG são transportados através da membrana dos microvilos dos sinciciotrofoblastos da placenta (HERRERA, 2002). Variações dietéticas no consumo de AGE, ao longo da gestação, podem afetar a disponibilidade dos AGPI-CL para o feto (HERRERA, 2002). Estratégias têm sido propostas a fim de garantir o consumo materno suficiente de AGE, tendo em vista que a ingestão

dietética adequada de AGPI-CL ou de seus precursores, durante o período perinatal, é essencial para o crescimento fetal e neonatal bem como para o desenvolvimento pós-natal, estando envolvidos com a manutenção neural, afetando a função neurológica, comportamental e cognitiva (DUTTAROY et al., 2002).

Os AGE são direcionados, inicialmente para a placenta, como TG, transportados pelas lipoproteínas da circulação materna. Os TG não atravessam a barreira placentária, portanto, a habilidade da placenta em extrair esses AG da circulação materna e transferi-los para o feto é de crucial importância. A enzima LPL, localizada na porção materna da placenta, nos trofoblastos, promove a hidrólise dos TG, presentes nos quilomícrons e VLDL, para liberar os AG, que são fontes de energia para o feto. Os AG livres podem ser, posteriormente, esterificados ou oxidados, podendo ser transferidos para o feto pelas proteínas de ligação de AG, por difusão simples ou por difusão facilitada (TABANO et al., 2006; BILDIRICI; ROH et al., 2003).

2.4 Crescimento intrauterino restrito

Nas últimas décadas, inúmeros avanços científicos, relacionados aos mais distintos procedimentos e cuidados obstétricos, concorreram para a redução da mortalidade e morbidade perinatal. Entretanto, questões relacionadas aos determinantes do CIUR permanecem constituindo tema que exige investigação (REGEV et al., 2003, PEREIRA et al., 2014). Esta condição fetal representa uma das ocorrências mais frequentes na prática obstétrica, constituindo a segunda causa mais prevalente de mortalidade perinatal (MOREIRA NETO; CÓRDOBA; PERAÇOLI, 2011).

Fetos com CIUR têm menores valores de Apgar, maior risco de asfixia perinatal, comprometimentos neurológicos, hipotermia, hipocalcemia, hemorragias pulmonares e diminuição das defesas imunológicas. Por estas razões, apresentam maiores taxas de morbidade e mortalidade perinatal, quando comparados aos fetos com crescimento adequado. O baixo peso ao nascer e o CIUR são um dos principais determinantes da doença cardiovascular e intolerância à glicose na vida adulta (ZOHDI et al., 2012).

A literatura tem apontado fatores ambientais e maternos como preditores da ocorrência de CIUR, indicando maior incidência em países subdesenvolvidos. (GOLDENBERG; CLIVER, 1997; MOREIRA NETO; CÓRDOBA; PERAÇOLI, 2011; PEREIRA et al., 2014).

Estima-se que 3 a 10% dos recém-nascidos apresentem CIUR, mas a incidência pode variar em razão de diferentes determinantes como, a população estudada, os fatores de risco envolvidos, as técnicas utilizadas para o cálculo da idade gestacional (IG) e a curva-padrão utilizada. No Brasil, o CIUR representa problema clínico comum, reconhecido em 10% a 15% das gestações (MOREIRA NETO; CÓRDOBA; PERAÇOLI, 2011). Corroborando essa expectativa, dados relativos à clínica obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, durante os anos de 2004 e 2005, apontaram incidência de CIUR em 11% (BORTOLOTTO MRF, 2008 [ver obs descrita na listagem]). De outro modo, estudo realizado em uma maternidade na cidade do Rio de Janeiro, mostrou que 44% dos recém-nascidos, com IG entre 32 e 36 semanas, apresentaram CIUR, indicando frequência elevada entre neonatos pré-termo (FONSECA; COUTINHO, 2008).

O adequado crescimento intrauterino é influenciado pelo potencial genético individual, além de outros diversos fatores, que podem ser ambientais, biológicos, assim

como o estado de saúde e nutricional maternos (BOTERO; LIFSHITZ, 1999). Entretanto, a insuficiência placentária constitui fator de reconhecida importância, devendo ser considerada, na medida em que, usualmente, acarreta suprimento insuficiente de nutrientes e gases para o feto (MULLIS; TONELLA, 2008). Assim, as complexas interações entre o potencial de crescimento genético, a habilidade do sistema materno-placentário em transferir nutrientes para o feto bem como o meio endócrino, determinam se o feto alcançará seu potencial de crescimento, durante a vida intrauterina (CETIN; MANDÒ; CALABRESE, 2013). Alguns fatores que interferem no crescimento intrauterino estão representados no esquema apresentado na **Figura 5**.

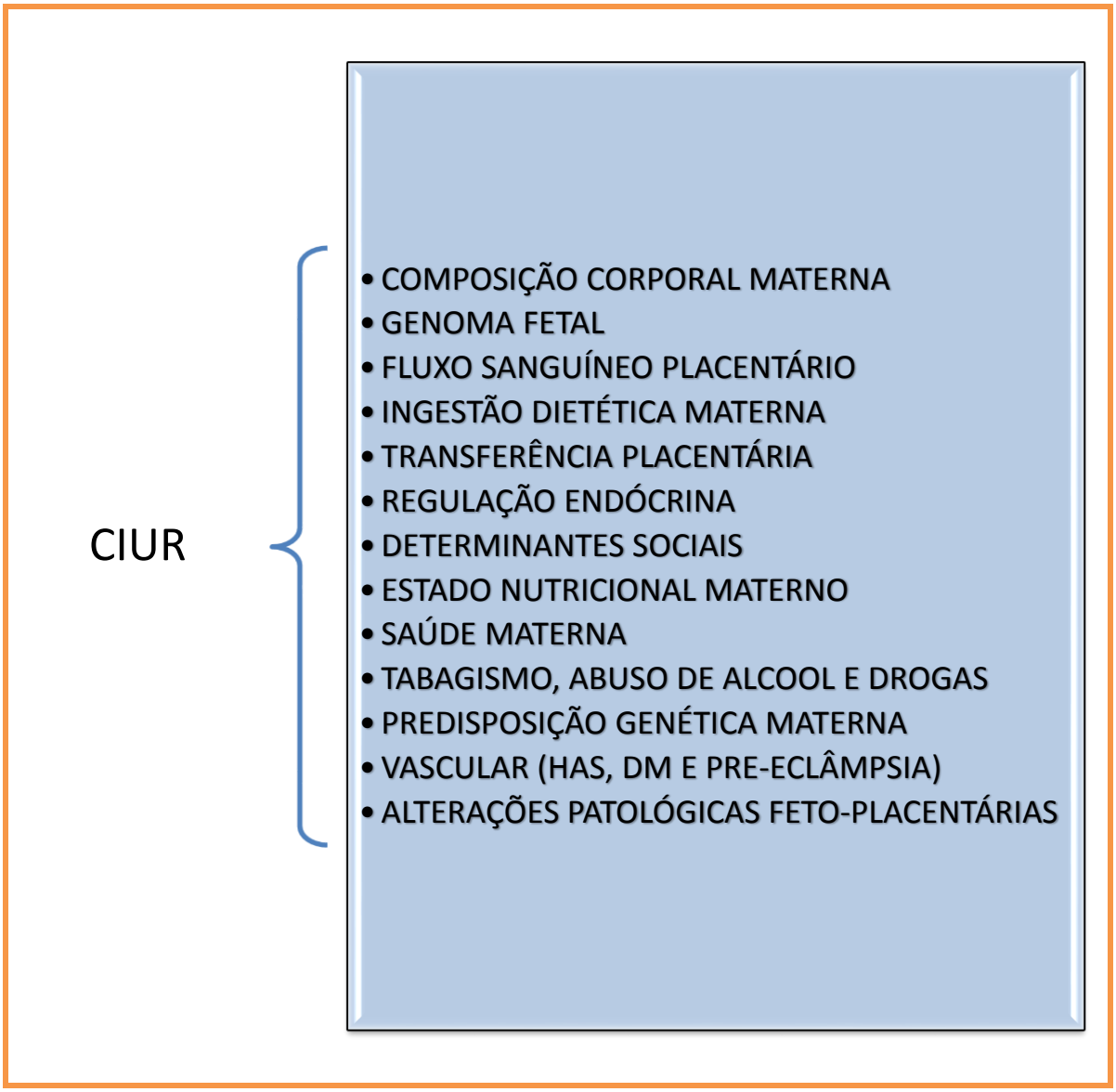

Figura 5. Fatores maternos- fetais que influenciam no CIUR.. CIUR – crescimento restrito intrauterino; HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica; DM – Diabetes *Méllitus*. Adaptado de: CETIN; MANDÒ; CALABRESE, 2013.

Segundo Cetin e Alvino (2009), não há definição clínica, aceita internacionalmente, para CIUR. Apesar de permanecer sendo alvo de críticas, o conceito que considera o peso para a IG ainda é o mais utilizado (AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS, ACOG, 2000). Portanto, CIUR ocorre quando a taxa de crescimento

fetal fica abaixo do que o indivíduo poderia atingir, considerado seu potencial genético (CETIN; MANDÒ; CALABRESE, 2013).

Apesar de aproximadamente 20% dos fetos com restrição de crescimento não serem identificados antes do nascimento, a combinação de métodos clínicos e ultrassonográficos aumenta a possibilidade de se efetuar este diagnóstico (ACOG, 2000). Desta forma, o procedimento diagnóstico de CIUR mais adequado, seria por meio da avaliação de medidas de crescimento seriadas, realizadas ainda na gestação, via ultrassonografias. No entanto, na prática clínica, o que se utiliza é a medida isolada do peso ao nascer, comparada ao peso ao nascer esperado para a IG naquela população (MARGOTTO, 2002). Assim, alguns autores consideram fetos com CIUR aqueles com peso estimado abaixo do percentil 10 para a IG (ACOG, 2000). Em 1967, Battaglia e Lubchenco classificaram recém-nascidos em "pequenos para idade gestacional" (PIG), aqueles com peso abaixo do percentil 10, "adequados para idade gestacional" (AIG), aqueles com peso entre os percentis 10 e 90 e "grandes para idade gestacional" (GIG), aqueles com peso acima do percentil 90. No entanto Barker e colaboradores (2002) alertaram ser importante reconhecer que alguns recém-nascidos PIG, classificados como constitucionalmente pequenos, e que apresentam curva de crescimento com distribuição normal. Desta forma, nem todo recém-nascido com CIUR é PIG e nem todo PIG é CIUR (LEE, 2003). Esse último autor, define CIUR usando esse mesmo conceito, porém empregam os percentis 5 ou 3 para o diagnóstico, aumentando, assim, a sensibilidade e fidedignidade do diagnóstico.

Considerando que são utilizadas diferentes curvas-padrão de crescimento, cabe reconhecer a necessidade do estabelecimento de curvas específicas para populações distintas, na medida em que o crescimento fetal pode ser influenciado por fatores como raça, sexo,

classe social e até mesmo a altitude (MOREIRA NETO; CÓRDOBA; PERAÇOLI, 2011). Neste sentido, Pedreira e colaboradores (2011) estabeleceram, com base em dados de aproximadamente oito milhões de recém-nascidos no Brasil, referências para peso ao nascer, de acordo com a IG, incluindo o período compreendido entre a 22ª e a 42ª semanas de gestação. Desta forma, é possível o estabelecimento de diagnóstico, com base em dados específicos para a população brasileira.

Lin e Santolaya-Forgas (1998) classificaram o CIUR em três tipos clínicos, relacionando-os com o período de incidência dos fatores etiológicos sobre o desenvolvimento fetal, conforme descrição a seguir:

- Tipo 1 ou Simétrico: quando os fatores etiológicos originam-se de anomalias congênitas (intrínsecas) ou de infecções pré-natais e irradiações (extrínsecas). Entre as infecções destacam-se rubéola, citomegalovirus, herpes, influenza, varicela, hepatite, poliomielite, toxoplasmose, malária, sífilis e tuberculose, que constituem cerca de 20% dos casos e são de pior prognóstico, exceto quando se relacionam com fatores constitucionais, que atuariam na fase de crescimento celular hiperplásico (ou seja, no início da gravidez). O tipo simétrico tem elevada incidência de malformações. Os fetos são caracteristicamente pequenos, hipoplásicos, simétricos e harmônicos.

- Tipo Intermediário: quando os fatores etiológicos atuam no segundo trimestre da gestação, tanto na fase de crescimento hiperplásico, quanto na fase de crescimento hipertrófico.

- Tipo II ou Assimétrico: neste caso, os fatores etiológicos atuam no último trimestre da gestação, na fase de crescimento hipertrófico. As principais causas são a hipertensão

arterial sistêmica e a desnutrição materna. As doenças que acarretam redução da oxigenação do espaço interviloso, como as cardiopatias cianóticas, anemias graves, diabetes mellitus tipo 1 e 2, também se relacionam com CIUR assimétricos, que apresentam desproporcionalidade corporal. As doenças maternas e placentárias representam 35% do total, citando-se as doenças cardíacas e pulmonares maternas, nefropatias, pré-eclâmpsia, e hipertensão arterial crônica. Outros fatores etiológicos incluem anomalias dos anexos, gravidez múltipla e hábitos maternos (tabagismo e consumo de álcool e drogas). Os fatores desconhecidos constituem o maior grupo, correspondendo a 40% dos casos de CIUR. É o tipo de CIUR mais frequentemente observado, sendo este grupo de fetos os que apresentam melhor prognóstico. Ocorre desproporção entre o tamanho da cabeça em relação ao abdome do feto, que é considerado hipotrófico e assimétrico.

Os fatores etiológicos responsáveis pela instalação do CIUR podem ser classificados em maternos, fetais e útero-placentários.

A **Figura 6** apresenta o resumo do detalhamento descrito acerca da classificação proposta por Lin e Santolaya-Forgas (1998)

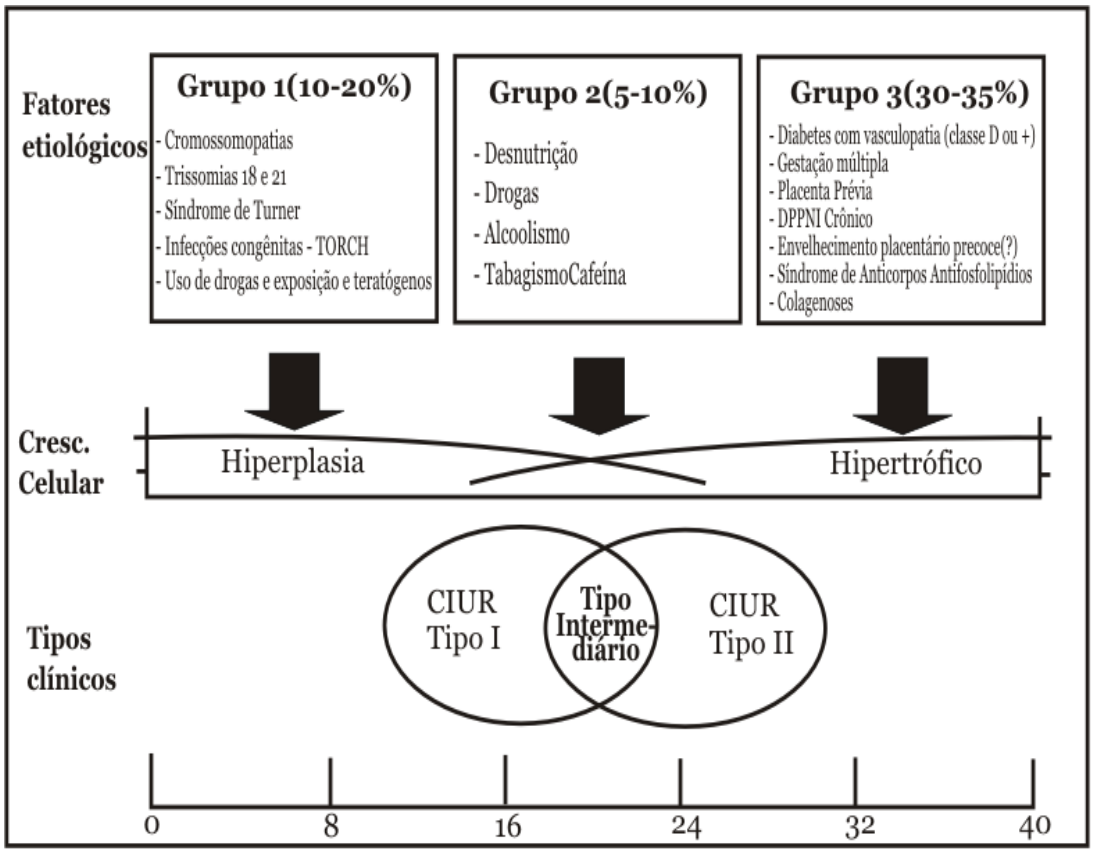

Figura 6. Fatores etiológicos, celulares e tipos de CIUR. CIUR – Crescimento restrito intrauterino; TORCH (T = toxoplasmose, O = outras, R = rubéola, C - citomegalovírus, H = herpes simples); DPPNI - descolamento prematuro de placenta normalmente inserida. Fonte: LIN; SANTOLAYA-FORGAS, 1998.

Assim, o feto esta suscetível à ação de estímulos ou estresses ambientais intrauterinos, de diferentes naturezas, capazes de gerar adaptações celulares, moleculares e bioquímicas persistentes. Esse processo pode comprometer vias metabólicas e processos fisiológicos, de modo não compatível com o desenvolvimento esperado. Pesquisa, buscando fornecer subsídios para a compreensão dos mecanismos moleculares capazes de justificar estes processos tem sido desenvolvida, Particularmente, o período fetal e neonatal, e a ocorrência de restrição do crescimento fetal, têm sido objeto de grande investigação nesta área (BARKER et al., 2002).

3. Justificativa

As proteínas que transportam os AG estão envolvidas na captação preferencial de AGPI-CL para o feto. A expressão gênica dessas proteínas relaciona-se com a incorporação de AGPI-CL pela placenta e seus teores na circulação materna e fetal. Não encontramos na literatura referências acerca das concentrações de ácidos graxos na placenta e a relação destas com a expressão das proteínas transportadoras de AG neste tecido, em gestações com CIUR.

Maior e melhor compreensão acerca dos mecanismos envolvidos na transferência placentária de AGPI-CL, como AA e DHA, de neonatos com alterado padrão de crescimento uterino, pode contribuir para abrir novas perspectivas no tratamento clínico dessa intercorrência gestacional, bem como na prevenção de futuras doenças, uma vez que alterações no crescimento fetal podem aumentar a morbidade, inclusive na vida adulta.

4. Objetivos

4.1 Objetivo geral

Investigar, em placentas de mães adultas com gestação normal e com CIUR, os teores de ácidos graxos e a expressão de proteínas placentárias envolvidas na transferência de ácidos graxos de cadeia longa e essenciais para o feto.

4.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar as gestantes quanto aos aspectos sociodemográficos, obstétricos, antropométricos, clínicos e de assistência pré-natal e realizar a comparação entre os grupos;
2. Caracterizar os recém-nascidos quanto às condições ao nascer (variáveis antropométricas – peso, comprimento, perímetro cefálico, índice peso/idade gestacional ao nascer) e intercorrências no período neonatal precoce e realizar a comparação entre os grupos;
3. Quantificar os ácidos graxos nos eritrócitos do sangue do cordão umbilical e materno e realizar a comparação entre os grupos;
4. Quantificar os ácidos graxos nos lipídios totais das placentas e realizar a comparação entre os grupos;
5. Avaliar a expressão dos genes que codificam as proteínas envolvidas na captação e/ou transporte de ácidos graxos de cadeia longa e essenciais na placenta e realizar a comparação entre os grupos;

6. Testar correlações entre as concentrações de AGPI-CL das séries n-3 e n-6 e a expressão gênica das proteínas investigadas dos grupos estudados;
7. Testar correlações entre as concentrações de AGPI-CL das séries n-3 e n-6 e as características socioeconômicas e antropométricas dos grupos estudados;
8. Testar correlações entre a expressão gênica das proteínas investigadas e as características antropométricas dos recém-nascidos dos grupos estudados.

5. Métodos

5.1 Captação dos participantes e questões éticas

Trata-se de estudo analítico transversal (HENNEKENS; BURING, 1987), cujo planejamento obedeceu aos aspectos éticos, inclusive os princípios de beneficência e maleficência 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 da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) (CEP/MEC CAAE:0014.0.361.000-10, ANEXO A). As gestantes eram abordadas no dia do parto e para participação do estudo foi solicitada sua autorização por escrito, por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), que continha esclarecimentos acerca dos objetivos e procedimentos do estudo, garantia de sigilo dos dados e de seu uso restrito para fins de pesquisa (ANEXO B). Também foi solicitada autorização para a inclusão de seus filhos, com registro pelo TCLE.

5.2 Critérios de seleção

A população estudada foi constituída por 23 gestantes adultas: 15 mulheres que pariram crianças AIG e 8 cujos cujos neonatos apresentavam CIUR, bem como seus respectivos recém-nascidos.

Os critérios de seleção foram:

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 CIUR, nos grupos CIUR e controle, respectivamente.

5.3 Informações sociodemográficas

Foram avaliados, idade cronológica, situação marital, escolaridade, condições de saneamento da moradia, atividade profissional, renda familiar total e número de pessoas no domicílio, cujas dados foram coletados por consulta aos prontuários e entrevista. As informações obstétricas e da assistência pré-natal investigadas foram: idade ginecológica; IG, segundo a data da última menstruação e ultrassonografia; número de gestações, partos e abortos (tipo); intervalos interpartal e intergestacional; número de consultas da assistência pré-natal e de assistência nutricional pré-natal; IG na primeira consulta da assistência pré-natal; medicamentos e/ou suplementos nutricionais usados na gestação; história reprodutiva anterior; doença obstétrica atual; história familiar; tabagismo e uso de drogas. Foram excluídas do estudo as gestantes que não atenderam aos critérios de inclusão.

5.4 Avaliação antropométrica materna

Para avaliação do estado antropométrico materno foi obtido o peso pré-gestacional medido na primeira consulta, caso essa tenha ocorrido 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 OMS (WHO, 1995) e pelo *Institute of Medicine* (IOM) (IOM, 2009), validadas, por Padilha e colaboradores (2009), para gestantes brasileiras atendidas na Maternidade Escola/UFRJ. Desse modo, as gestantes participantes do estudo foram classificadas como: baixo peso (IMC <18,5 kg/m^2); eutrofia (IMC ≥ 18,5 kg/m² e < 25 kg/m^2); sobrepeso (IMC ≥ 25kg/m² e < 30 kg/m^2) e obesidade (IMC ≥ 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 1 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 2500 gramas. 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 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 do CIUR

O diagnóstico de CIUR foi realizado pela equipe médica 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 maternidade escola da UFRJ para CIUR (ANEXO D).

5.7 Coleta e armazenamento de amostras biológicas

No momento do parto, o sangue do cordão umbilical foi coletado pela equipe de obstetras, por ordenha manual, recolhido em tubos contendo 1g Na2- EDTA/L. No dia seguinte, com o mesmo tipo de tubo contendo EDTA, o sangue materno também foi coletado.

Imediatamente após o parto, foram coletadas alíquotas da porção central das placentas da face fetal e materna, lavadas com PBS (4ºC) para retirada do excesso de sangue, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80ºC. As placentas foram separadas de seus respectivos cordões umbilicais e pesadas em balança Filisola®. O peso da placenta também foi avaliado em relação ao peso do feto, por meio do índice placentário, dividindo-se o peso da placenta pelo peso do recém-nascido, ambos em gramas (OLIVEIRA; XAVIER; LANA, 2002).

O sangue materno e do cordão umbilical foi submetido à centrifugação (3500 rpm por 15 minutos a 4ºC), para a separação do plasma e eritrócito. O plasma foi transferido para

eppendorfs, e adicionou-se 50µL de solução de ditionito a cada 1 mL de plasma. A fração de eritrócitos foi obtida conforme descrito por Ney e colaboradores (2009).

Todo o material biológico coletado foi armazenado em freezer -80ºC até a ocasião das análises.

5.8 Análise de ácidos graxos na placenta, sangue do cordão umbilical e sangue materno

A extração de lipídios e saponificação dos AG da placenta foram realizadas de acordo com o método proposto por Folch, Lees e Sloane Stanley (1957). A metilação dos AG foi efetuada a frio, diretamente pelo método de transesterificação descrito por Lepage e Roy (1986). Esse mesmo método foi aplicado para a extração de lipídios, saponificação e metilação dos AG dos compartimentos sanguíneos.

Os teores de AG dos lipídios totais das amostras de placentas e de eritrócitos materno e fetal foram analisados por cromatografia gás-líquido, utilizando equipamento *Agilent Technologies* 7890A CG System, provido de detector de ionização de chama, coluna capilar específica para separação de AG (SP-2560 - (Supelco Inc., Bellefonte, PA) com 100m x 0,25µm x 0,20µm de diâmetro interno e acoplado a um *software* EZChrom Elite CDS (*Agilent Technologies, Inc., C.A., U.S.A*). Um microlitro da amostra foi injetado no cromatógrafo, com razão de divisão (*split*) de 1:4. H_2 foi utilizado como gás de arraste (0,75 mL/min), N_2, como gás *make up* (25mL/min). Um FID (detector de ionização de chama) foi utilizado com as seguintes taxas de fluxo: H_2 (30mL/min) e ar sintético (400mL/min). As temperaturas do detector e do injetor foram ajustadas para 250°C, com gradiente de temperatura da coluna iniciada a 100°C (3°C/min) até 140°C. Posteriormente, 140°C

(0,5°C/min) até 170°C, seguido de 3,2°C/min até 220°C, permanecendo nessa temperatura durante 35 minutos, finalizando o processo. O tempo de retenção relativo dos picos do padrão de mistura de ésteres metílicos 463 (Nu-Chek Prep. Inc.) foi usado como referência para a identificação dos AG e utilizou-se o padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich®) para sua quantificação.

5.9 Análise da expressão dos genes que codificam as proteínas envolvidas no transporte de ácidos graxos na placenta

A análise da expressão dos genes que codificam as proteínas envolvidas na captação ou translocação ou transporte de AG na placenta (FATP 1, 2, 3 e 4; CD36; FABP 3, 4 e 5; FABPm) bem como da expressão da LPL placentária, foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Larqué e colaboradores (2006), que envolve etapas iniciais de extração de RNA total e transcrição reversa. Após obtenção do cDNA, a expressão gênica foi determinada mediante amplificação, pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*, reação em cadeia de polimerase) em tempo real, utilizando-se o kit SYBR Green PCR Master Mix (*Applied Biosystems*) e seguindo-se as recomendações do fabricante. A reação foi efetuada em uma placa de 96 poços (*MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate* (*Applied Biosystems*). Em cada poço foram colocados 6,25μ L da reação de primeira fita de cDNA diluída quatro vezes, 12,5μL da solução mix do kit e 6,25μ L de uma mistura dos dois oligonucleotídeos a 3,6μM cada um. Como controle negativo foi conduzida reação sem o molde de primeira fita. O resultado bruto do *software* do PCR em tempo real foi uma curva logarítmica da intensidade de fluorescência na fase inicial, que se transforma, gradativamente, num platô de saturação. A expressão relativa foi determinada pelo método ΔΔCt (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).

O cálculo de ΔΔCT (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).baseado na amplificação exponencial da PCR, foi obtido a partir da expressão QR=2-ΔΔCT, em que QR (quantificação relativa) representa a expressão gênica comparativa entre um grupo controle e um grupo experimental (CIUR); CT (*Cycle Threshold*) representa o ciclo de amplificação limiar, presente na fase exponencial da curva de amplificação; ΔCT se refere à diferença entre o CT da amostra amplificada para o gene alvo e o CT da mesma amostra amplificada para o gene constitutivo (GAPDH); e o ΔΔCT representa a diferença entre o ΔCT de uma amostra calibradora do grupo controle e o ΔCT da amostra experimental.

Os oligonucleotídeos utilizados na análise de PCR em tempo real foram desenhados por meio do software Primer Express (*Applied Biosystems*), conforme descrição apresentada na **tabela 1**.

Tabela 1 - Oligonucleotídeos utilizados na análise de PCR em tempo real

Genes	*Forward (5´-3´)*	*Reverse (3´-5´)*
FAT/CD36	GGAAAGTCACTGCGACATGA	CCTTGGATGGAAGAACGAATC
FABPpm	GGAAGGAAATAGCAACAGTGG	TCCTACACGCTCACCATATAAGC
FATP1	AGGTGGTTCAGTACATCGGG	AGAACTCCCCGATTTGGC
FATP2	CATCAGCGCATATGGTATGG	ATCTGCCTTCAATCCGCTTA
FATP3	GGTGTTGATGAGGGCTGC	CAGAGGTCTTCGAGGGCCCTA
FATP4	ATACCCACTGAACCTTTGGC	AAGGTCTCTGTGGTGGCCAA
FABP3	TTTTGCTACCAGGCAGGTG	TCATCTGCTGTTGTCTCATCG
FABP4	TGGTGGAATGCGTCAT	GGTCAACGTCCCTTGGCTTA
FABP5	CAGCAAAGGCTTTGATGAATACA	TTTCTGCCATCAGCTGTGGTT
LPL	AGGCTTCACTCATCCGTGCCTCC	TTATGCTGCTTTAGACTCTTGTC
GAPDH	GAAGGTGAAGGTCGGAGTCAA	GGAAGATGGTGATGGGATTTC

FABP - proteína de ligaçãode ácidos graxos; FABPpm - proteína de ligaçãode ácidos graxos de membrana plasmática; FATP- proteína transportadora de ácido graxo; LPL- lipoproteína lipase; GAPDH - gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

5.10 Análise estatística

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o software *GraphPad Prism* 5 e o nível de significância fixado em 5% ($p < 0,05$). O intervalo de confiança de 95% foi empregado para comparar as frequências entre as variáveis categóricas. Os testes *t* pareado e *Mann-Whitney* foram aplicados para comparar dados de um mesmo grupo, com distribuições paramétricas e não paramétricas, respectivamente.

Para avaliação das correlações utilizamos o software SPSS versão 20 (*IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.*). Foi adotado o critério proposto por Dancey e Reidy (2006) que indica para valores de r superiores a 0,70, forte correlação, para valores variando entre 0,30 e 0,70, correlação moderada e, para valores inferiores a 0,30, correlação fraca.

A significância das correlações, ao nível de 5%, foi identificada por meio da realização do teste de hipóteses, considerada como hipótese nula, a ausência de correlação linear entre as variáveis.

6. Resultados

A amostragem do presente estudo foi composta por 23 gestantes adultas. Quinze mulheres e seus respectivos neonatos AIG, formaram o grupo controle. O grupo CIUR incluiu oito mulheres, assim como seus respectivos neonatos, que apresentaram diagnóstico de crescimento intrauterino restrito.

Considerando os dados relativos à escolaridade, 80% das gestantes apresentavam primeiro grau incompleto. O número de anos de estudo foi menor no grupo CIUR (4,2 ± 1,0) comparado ao controle (7,62 ± 3,42) (p=0,015**)**. 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 (grupo CIUR) e R$ 365,20 ± 265,42 (grupo controle). Verificou-se que a idade da menarca foi similar entre os grupos (13,4 ± 1,3 e 12,2±1,9 anos para o grupo controle e CIUR, respectivamente).

Na **tabela 2** observa-se que a idade média materna foi similar entre os grupos. Quanto à paridade, constatou-se diferença entre as gestantes. O número médio de partos realizados anteriormente a esta gestação foi aproximadamente 64% superior no grupo controle quando comparado ao grupo CIUR, onde verificou-se que a grande maioria das mães com CIUR eram primíparas. Todas as gestantes realizaram pré-natal. O mesmo não foi observado com relação às consultas nutricionais no pré-natal. A maioria das gestantes não teve acesso a este acompanhamento, considerando que a média foi de apenas uma consulta. Na **tabela 2** observa-se também maior ganho de peso materno durante a gestação no grupo controle em relação ao grupo CIUR. Considerando os dados antropométricos de todas as gestantes, tanto

em relação ao IMC pré-gestacional, quanto ao IMC pre-parto, não foram verificadas diferenças significativas .

Tabela 2 - Características maternas associadas ao nascimento de recém-nascidos Controle e CIUR, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.

Variáveis	Grupo Controle (n=15) Média ± DP [min-max (med)]	Grupo CIUR (n=8) Média ± DP [min-max (med)]	*p valor*[1]
Idade materna (anos)	26,00 ± 4,84 [20-34 (25)]	25,62 ± 6,54 [20-30 (24)]	0,4490
Número de partos realizados em gestações anteriores	2,25 ± 1,28 [1-3 (1)]	1,37 ± 0,51 [1-2(1)]	**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
Ganho de peso durante a gestação (g)	15,33±2,41 [14-19 (15)]	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)]	0,4145

DP= desvio padrão da médio; [mim-max (med)] -mínimo-maximo e media; IMC=índice de massa corporal; 1 - teste *t* de *stundent*

A **tabela 3** apresenta os dados antropométricos dos neonatos. Verificou-se que quando o peso ao nascer foi classificado segundo a IG, as crianças CIUR apresentaram menores perímetro cefálico e peso ao nascer (p<0,0001) em relação aos neonatos das mães controles. Além disso, mães CIUR apresentaram peso significativamente menor das placentas em relação ao grupo controle (p<0,0001). O média dos índices placentário foi semelhante em ambos os grupos (controle = 5,1±0,4 e CIUR 5,1 ±0,8).

Tabela 3 - Caracterização do estado antropométrico dos recém-nascidos e variáveis do parto, grupos Controle e CIUR, Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013..

Variáveis	Grupo Controle (n=15) Média ± DP [min-max (med)]	Grupo CIUR (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)	3.339,37±403,09 [2790-3900 (3290)]	2.397,50±296,53 [2000-2925 (2337)]	**0,0001**
Comprimento ao nascer (cm)	47,62±6,01 [33-51,5 (49,2)]	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 (32,7)]	**0,0356**
Peso da placenta (g)	645,00±100,78 [520-830 (645)]	464,37±39,31 [410-530 (474)]	**0,0001**

DP= desvio padrão da médio; [mim-max (med)] -mínimo-maximo e media; IMC=índice de massa corporal; 1 - teste *t* de *stundent*

Os dados relativos aos teores de AG nos eritrócitos do sangue materno e do cordão umbilical dos grupos controle e CIUR estão representados na t**abela 4**.

Tabela 4 - Conteúdo relativo de ácidos graxos nos lipídios totais extraídos de eritrócitos do sangue materno e do cordão umbilical dos grupos Controle e CIUR (mg/100mg), Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.

	Grupo controle (n=15)		Grupo CIUR (n=8)	
Ácidos Graxos	**Sangue Materno**	**Sangue do cordão umbilical**	**Sangue Materno**	**Sangue do cordão umbilical**
Saturados				
C14:0	0,5±0,09	0,5±0,1	0,6±0,08	0,8±0,2
C16:0	23,5±1,4	23,9±0,9	23,3±1,9	24,2±2,1
C18:0	17,4±0,8	18,5±0,5	19,0±1,2	19,9±1,2
C22:0	0,8±0,13	0,6±0,09	1,0±0,28	0,9±0,26
Monoinsaturados				
C18:1 n-9 *cis*	12,5±0,3	10,1±1,2*	13,5±1,2	9,1± 0,5*
C18:1 n-9 *trans*	0,7±0,3	0,4±0,2	0,5±0,3	0,3±0,1
Poli-insaturados essenciais				
C18:2 n6 (linoleico)	11,0±1,9	4,2±0,6*	10,4±1,9	4,2±0,6*
C18:3 n3 (linolênico)	0,3±0,1	0,2±0,1	0,5±0,1	0,3±0,08
Poli-insaturados de cadeia longa				
C20:4 n-6[1]	**15,8±1,7**	**20,0±1,6***	**12,6±2,1#**	**16,4±3,5*#**
C22:4 n-6	3,8 ± 0,7	4,3 ± 0,6	3,5 ± 0,8	4,0± 0,6
C20:5 n-3[2]	0,7±0,3	0,8±0,1	0,9±0,4	0,9±0,3
C22:6 n-3[3]	**5,5±1,3**	**6,1±0,9**	**3,6±0,7#**	**4,6±0,80#**
C22:5 n-3[4]	1,9±0,5	0,5±0,2*	1,6±0,4	0,6±0,31*
Total de AGS[10]	41,8±2,7	43,6±1,7	46,0±3,8	48,0±1,9#
Total de AGM[5]	13,8±1,4	12,1±1,3	15,6±1,1	12,5±0,9*
Total de AGE[6]	11,5±1,8	4,4±0,6*	11,0± 1,9	4,5±0,6*
Total de AGPI-n6[7]	33,5±2,4	32,1±1,7	29,7 ± 3,5	29,2±4,7
Total de AGPI-n3[8]	8,5±1,2	7,7±1,1	6,7± 0,9#	6,5±0,5
Total de AGPI-CL[9]	21,9±3,3	27,1±1,5*	19,6±1,4#	24,1±3,3*#
C20:4n-6/C18:2n-6	1,4 ± 0,7	4,8±0,5*	1,2±0,9	3,9±0,5*#
C22:6 n-3/C18:3n-3	18,3±1,9	30,5±2,7*	7,2±0,7	15,3±1,7*#

[1]AA - ácido graxo araquidônico; [2]EPA – ácido graxo eicosapentaeoico; [3]DHA – ácido graxo docosahexaenoico; [4]DPA – ácido docosapentaenoico; [5]AGM: ácidos graxos monoinsaturados – inclui C18:1 9c, C18:1 11c; [6]AGE: ácidos graxos essenciais - Inclui C18:3 n-3 e C18:2 n-6; [7]Total AGPI n-6: ácidos graxos poli-insaturados - Inclui C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6 e C22:4 n-6; [8]Total AGPI n-3: ácidos graxos poli-insaturados - Inclui C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5 n-3 e C22:6 n-3; [9]Total AGPI-CL: ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa - Inclui EPA, DHA e AA; 10Total AGS : ácidos graxos saturados - Inclui C14:0, C16:0, C18:0 e C22:0; Valores apresentados em média e desvio-padrão. Médias significativamente diferentes entre os eritrócitos materno e fetal nos grupos CIUR ou Controle (t não pareado): *p<0,05. #Médias significativamente diferentes de eritrócitos materno e do cordão umbilical entre os grupos (t não pareado): #p<0,05.

Foram encontradas maiores concentrações de AG saturados totais nos eritrócitos do cordão umbilical no grupo CIUR em comparação aos do grupo Controle. Considerando os AG monoinsaturados observa-se que o C18:1 n-9 *cis* está presente em maior concentração no sangue materno em relação ao do cordão umbilical, em ambos os grupos. O grupo CIUR apresentou menores concentrações do somatório desses AG nos eritrócitos do cordão umbilical.

Em relação aos AGE, tanto o somatório desses AG, quanto o LA, foram maiores nos eritrócitos maternos em relação aos do cordão umbilical, em ambos os grupos ($p<0,001$). Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de ALA entre os compartimentos eritrocitários sanguíneos materno-fetais, tampouco entre os dois grupos estudados.

Nos eritrócitos do cordão umbilical, observam-se maiores concentrações de AA e de AGPI-CL totais em relação ao sangue materno, em ambos os grupos. Teores mais reduzidos de AA, DHA assim como do somatório de AGPI-CL, foram verificados nos eritrócitos do cordão umbilical do grupo CIUR, comparados aos do grupo Controle. Considerados os eritrócitos maternos, de ambos os grupos, observou-se que o AA, o DHA e o somatório de AGPI n-3 e de AGPI-CL mostraram valores mais reduzidos no grupo CIUR. A razão entre a proporção de AA e de seu precursor LA (C20:4n-6/C18:2n-6), assim como entre a proporção de DHA e ALA (C22:6 n-3/C18:3n-3), foi mais elevada no sangue do cordão comparado ao sangue materno, em ambos os grupos. No entanto, na comparação entre grupos, o CIUR apresentou relação significativamente inferior a do Controle. Porém, quando avaliamos o percentual de conversão do sangue materno para o cordão umbilical, em cada

grupo, constatamos que houve aumento significativamente superior para o grupo CIUR (**Figura 7**).

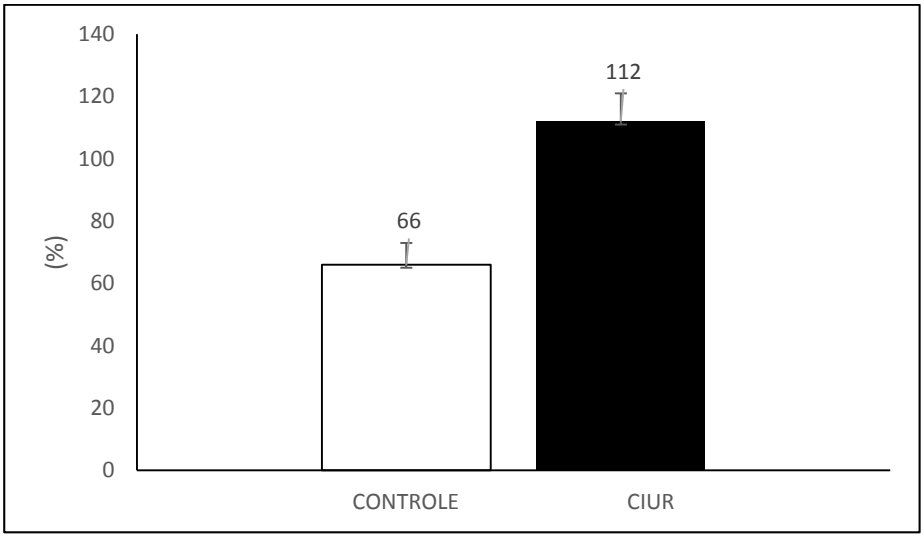

Figura7 - Percentual da diferença da conversão de DHA/ALA do sangue materno para o sangue do cordão dos grupos controle e CIUR (crescimento intrauterino restrito) ($p<0,001$).

Na t**abela 5** encontram-se descritos os teores de AG nos lipídios totais das amostras de placentas de gestantes Controle e CIUR. Não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos para quaisquer ácidos graxos identificados. No entanto, a razão entre a proporção de DHA e de ALA foi significativamente menor no grupo CIUR em relação ao Controle.

Tabela 5 - Conteúdo relativo de ácidos graxos nos lipídios totais extraídos de placentas dos grupos Controle e CIUR (mg/100mg), Maternidade Escola da UFRJ/RJ, 2013.

Ácidos graxos	Grupo Controle (n=15)	Grupo CIUR (n=8)
Saturados		
C14:0	0,3±0,1	0,3±0,2
C16:0	26,7±4,0	25,8±1,5
C18:0	14,7±1,4	16,7±2,2
C20:0	0,44±0,2	0,63±0,3
Monoinsaturados		
C18:1 n-9 *cis*	11,8±3,8	9,60±1,3
Poli-insaturados essenciais		
C18:2 n-6 (linoleico)	8,9±1,5	8,74±1,9
C18:3 n-3 (linolênico)	0,10±0,08	0,2±0,08
Poli-insaturados de cadeia longa		
C20:4 n-6[1]	17,6±3,3	16,8±3,8
C22:4 n-6	1,1 ± 0,3	1,1±0,2
C20:5 n-3[2]	0,39±0,04	0,42±0,1
C22:6 n-3[3]	2,6±0,5	2,6±0,96
C22:5 n-3[4]	0,56±0,2	0,62±0,08
Total de AGM[5]	14,2±3,5	11,9±1,8
Total de AGE[6]	9,1±1,5	9,01±1,9
Total de AGPI-n6[7]	29,7±4,1	30,4±4,8
Total de AGPI-n3[8]	3,4±1,2	3,3±0,9
Total de AGPI-CL[9]	20,2±3,6	19,8±4,7
Total de AGS[10]	42,7±5,0	43,4±3,7
C20:4 n-6/18:2 n-6	1,97±0,17	1,92±0,14
C22:6 n-3/ C18:3 n-3	26,0±2,4	13,3±1,1[*#]

[1]AA - ácido graxo araquidônico; [2]EPA – ácido graxo eicosapentaeoico; [3]DHA – ácido graxo docosahexaenoico; [4]DPA – ácido docosapentaenoico; [5]AGM: ácidos graxos monoinsaturados – inclui C18:1 9c, C18:1 11c; [6]AGE: ácidos graxos essenciais - Inclui C18:3 n-3 e C18:2 n-6; [7]Total AGPI n-6: ácidos graxos poli-insaturados - Inclui C18:2 n-6, C18:3 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6 e C22:4 n-6; [8]Total AGPI n-3: ácidos graxos poli-insaturados - Inclui C18:3 n-3, C20:5 n-3, C22:5 n-3 e C22:6 n-3; [9]Total AGPI-CL: ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa - Inclui EPA, DHA e AA; 10Total AGS : ácidos graxos saturados - Inclui C14:0, C16:0, C18:0 e C22:0; Valores apresentados em média e desvio-padrão. Médias significativamente diferentes entre os eritrócitos materno e fetal nos grupos CIUR ou Controle (t não pareado): *p<0,05. #Médias significativamente diferentes de eritrócitos materno e do cordão umbilical entre os grupos (t não pareado): #p<0,05.

No que se refere aos resultados relativos às análises de biologia molecular, comparamos a expressão relativa de diferentes proteínas responsáveis pela captação e transporte de AG nas amostras de placentas de gestantes pertencentes aos grupos Controle e CIUR. A **figura 8** mostra expressão significativamente aumentada das proteínas FATP 1, 2 e 4, nas placentas do grupo CIUR, em comparação ao grupo Controle. De outro modo, a expressão da proteína FATP 3 foi semelhante entre ambos os grupos.

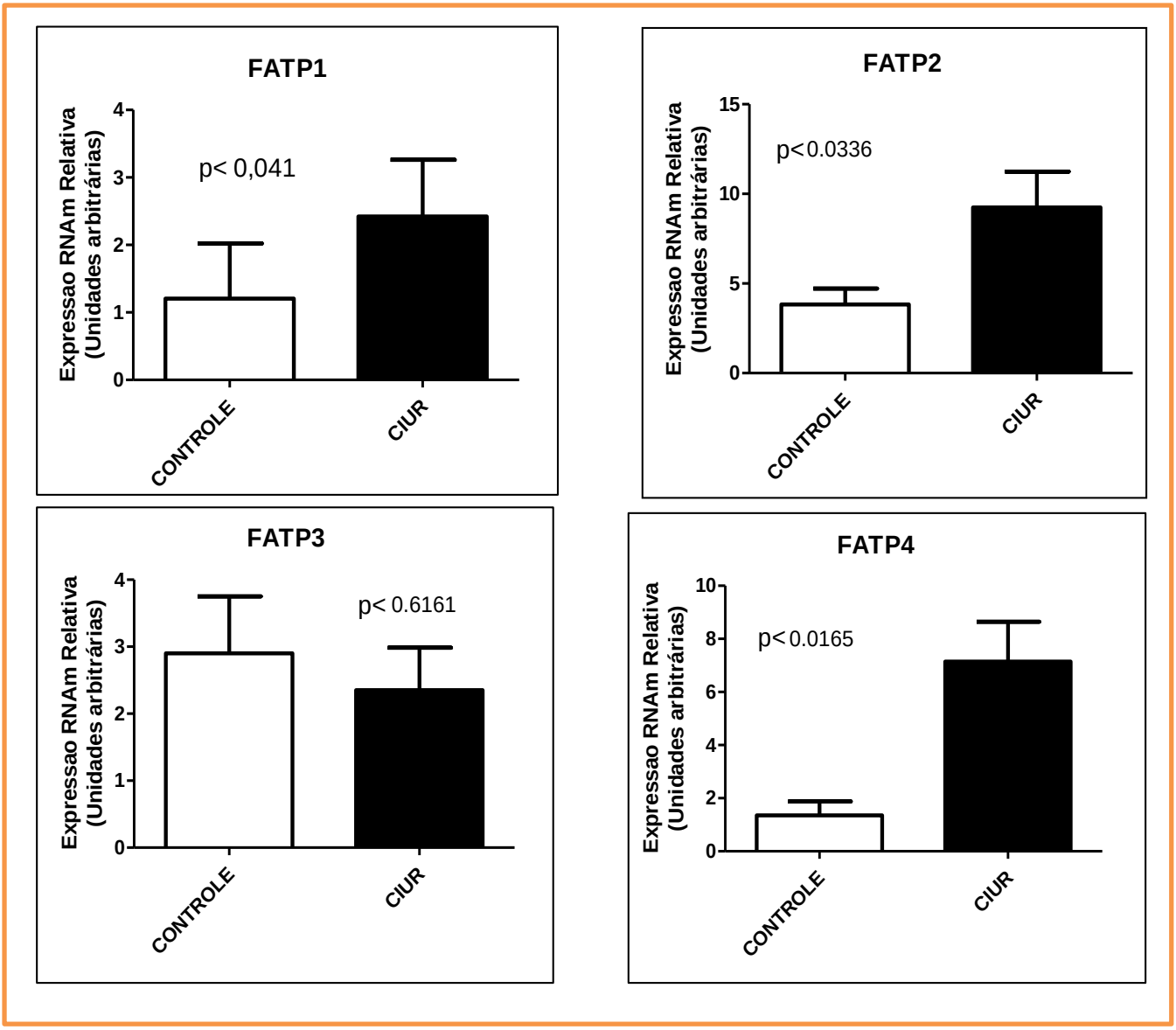

Figura 8 - Expressão relativa das proteínas **FATP** 1, 2, 3 e 4, após análise densitométrica e determinada por RT-PCR, para amostras de tecidos placentários de gestantes Controle e CIUR. A quantificação foi expressa em unidades arbitrárias e considerou-se significância estatística valores P<0,05.

Consideradas as proteínas placentárias ligantes de ácidos graxos (FABP), observa-se na **figura 9,** que o grupo CIUR apresentou aumento significativo na expressão das proteínas FABP 3 e 4, em relação ao grupo Controle. Já a expressão da proteína FABP 5 não apresentou diferença entre os grupos.

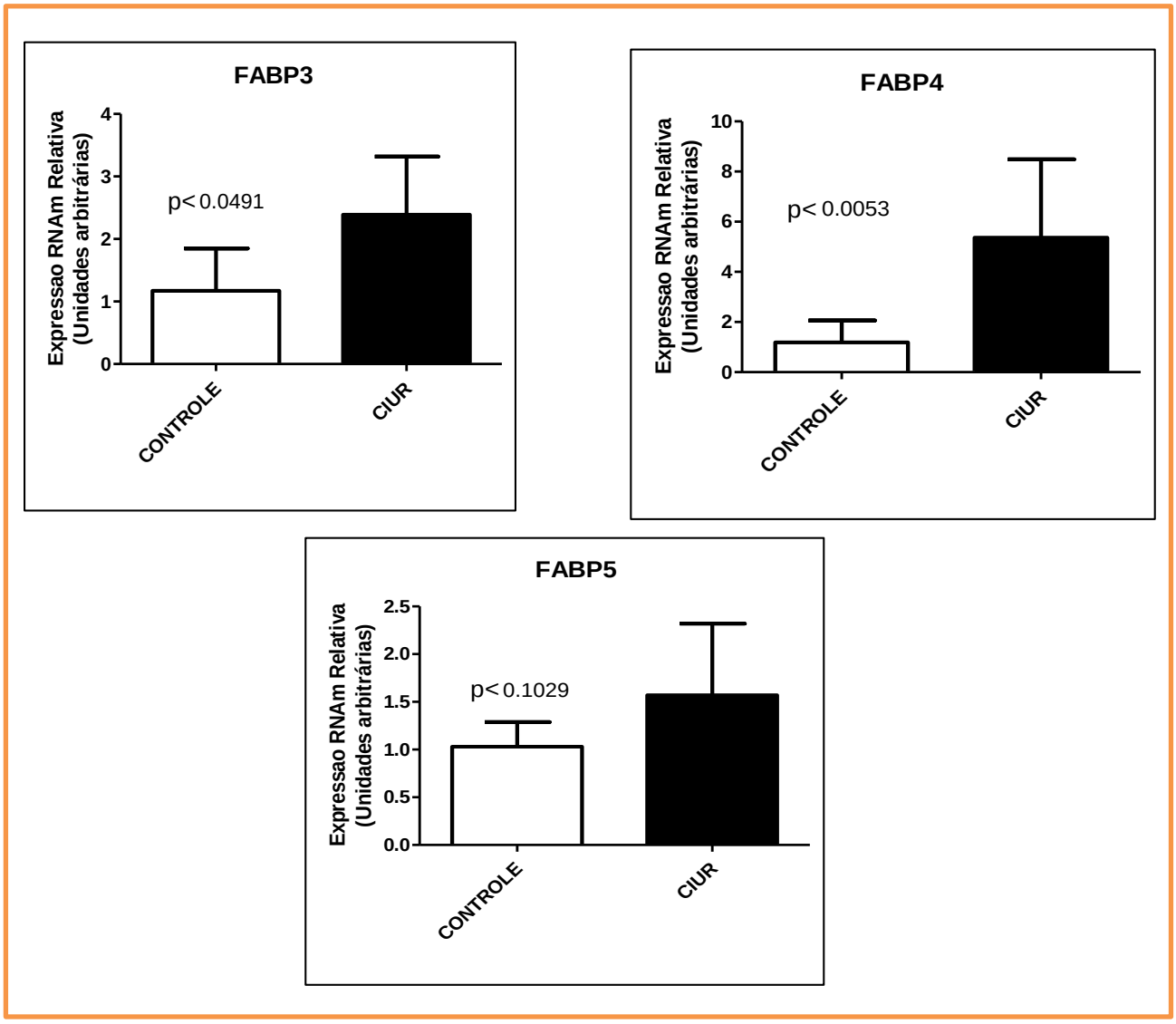

Figura 9 - Expressão relativa das proteínas **FABP 3, 4 e 5**, após análise densitométrica e determinação por RT-PCR, para amostras de tecidos placentários de gestantes Controle e CIUR. A quantificação foi expressa em unidades arbitrárias e considerou-se significância estatística valores P<0,05.

A análise da expressão das proteínas de captação de lipídios na placenta, FABPpm e FAT CD/36, revelou aumento significativo destas proteínas no grupo CIUR em relação ao Controle **(figura 10)**.

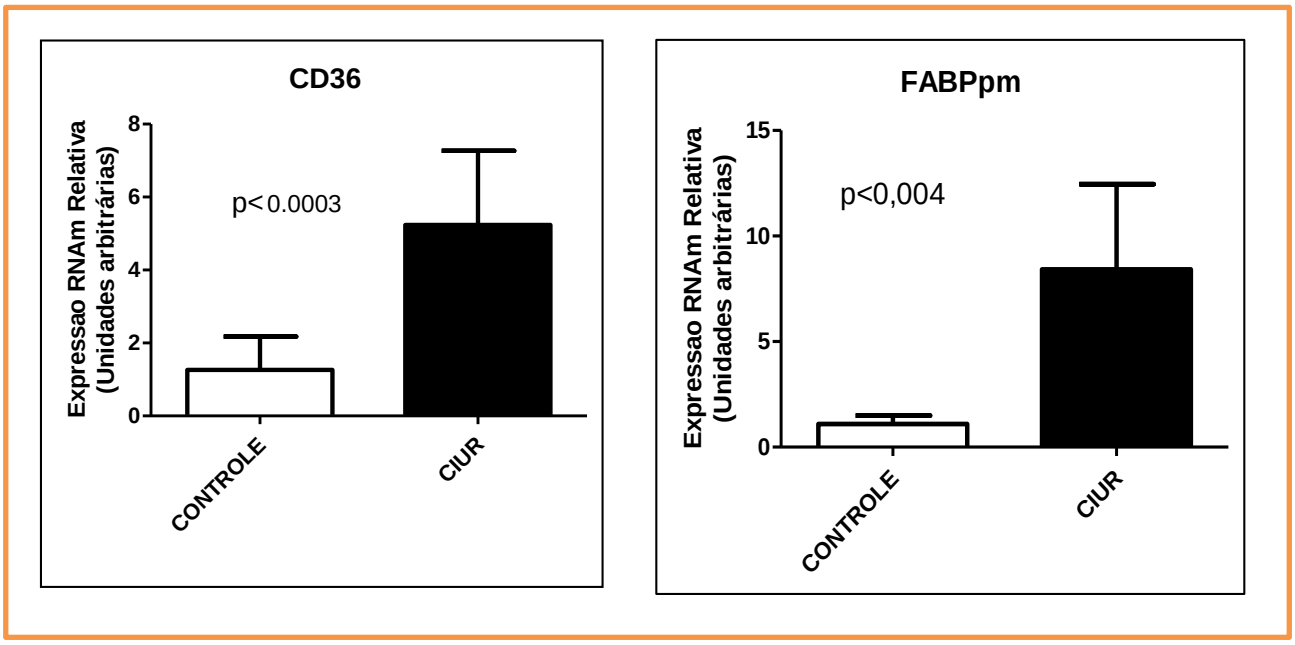

Figura 10 - Expressão relativa das proteínas **FABPpm** e **FAT CD/36,** após análise densitométrica e determinação por RT-PCR, para amostras de tecidos placentários de gestantes Controle e CIUR. A quantificação foi expressa em unidades arbitrárias e considerou-se significância estatística valores P<0,05.

Foi constatado significativo aumento na expressão de mRNA - LPL na placenta do grupo CIUR em relação ao Controle.

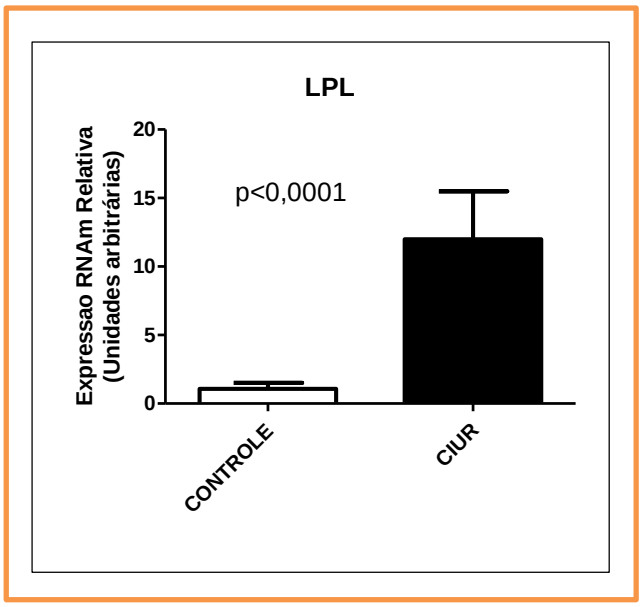

Figura 11 - Expressão relativa da proteína Lipase Lipoproteica (LPL), após análise densitométrica e determinação por RT-PCR, para amostras de tecidos placentários de gestantes Controle e CIUR. A quantificação foi expressa em unidades arbitrárias e considerou-se significância estatística valores P<0,05.

Na **tabela 6** é possível identificar os resultados relativos às correlações testadas entre as proteínas transportadoras de AG na placenta e a concentração de alguns AG no sangue materno e do cordão umbilical, assim como na placenta. Correlação positiva forte (r > 0,7) foi verificada entre o conteúdo de ALA do sangue materno e as proteínas FATP 1, FATP2, FABPpm e LPL. Correlação, também positiva, embora moderada (0,3 > r < 0,69), ocorreu entre esse mesmo AG e as proteínas transportadoras FATP3, FABP3, CD36. Quando considerados os teores de ALA na placenta, observamos correlação negativa e forte com as proteínas FATP 1, FABPpm, CD36 e LPL e, também negativa, porém moderada, com as proteínas FATP 2, FATP 3, FATP 4, FABP 3 e FABP 4.

Quando a correlação foi testada para os AGPI-CL da placenta, foi evidenciada associação positiva apenas com a proteína FATP1. Os AGPI-CL do sangue materno mostraram correlação negativa e moderada com as proteínas FATP1 e LPL, enquanto que o conteúdo desses AG no cordão apresentou correlação também negativa com as proteínas FATP2, FATP3, FATBP3, FABP5 e FABPpm. Correlação negativa foi verificada entre o DHA do sangue do cordão e as proteínas FATP3 e FABP3, embora com as proteínas FATP1, FATP2, FATP4, FABP4, FABP5, FABPpm, CD36 e LPL, também tenha sido identificada correlação negativa. Considerado o sangue do cordão, o conteúdo de DHA neste compartimento mostrou correlação negativa, exclusivamente, com a proteína CD36, enquanto que o de AA apresentou correlação negativa e moderada com as proteínas FATP3, FATBP3, FABP5 e FABPpm. De outro modo, foi identificada correlação positiva e moderada entre os teores de EPA da placenta e a proteína FATP1 e, negativa e forte, com a proteína LPL. No sangue materno, o conteúdo de EPA apresentou correlação negativa e moderada apenas com a proteína FABP5.

Tabela 6 - Correlação entre os ácidos graxos extraídos da placenta e de eritrócitos do cordão umbilical e materno e as proteínas transportadoras de AG da placenta, de gestantes pertencentes aos grupos Controle e CIUR.

Ácido graxo		Proteínas									
		FATP1	FATP2	FATP3	FATP4	FATBP3	FABP4	FABP5	FABP PM	CD36	LPL
DHA placenta	r	0,534	0,124	0,108	0,212	0,108	0,146	-0,079	-0,038	0,195	0,374
	p valor	0,073	0,660	0,714	0,532	0,714	0,619	0,789	0,911	0,505	0,232
DHA SC	r	**-0,792***	**-0,735***	**-0,888***	**-0,798***	**-0,888***	**-0,874***	**-0,617***	**-0,744***	**-0,668***	**-0,648***
	p valor	**0,004**	**0,003**	**0,000**	**0,010**	**0,000**	**0,000**	**0,025**	**0,009**	**0,013**	**0,031**
DHA SM	r	-0,602	-0,454	-0,422	-0,541	-0,422	-0,367	-0,233	-0,584	**-0,561***	-0,471
	p valor	0,050	0,103	0,172	0,133	0,172	0,241	0,444	0,059	**0,046**	0,144
Linolênico (w3) placenta	r	**-0,809***	**-0,569***	**-0,672***	**-0,695***	**-0,672***	**-0,542***	-0,298	**-0,804***	**-0,708***	**-0,888***
	p valor	**0,001**	**0,027**	**0,008**	**0,017**	**0,008**	**0,045**	0,301	**0,003**	**0,005**	**0,000**
Linolênico SC	r	0,409	0,179	0,309	0,107	0,309	0,013	0,468	0,499	0,166	0,057
	p valor	0,240	0,578	0,385	0,819	0,385	0,972	0,125	0,172	0,626	0,884
Linolênico SM	r	**0,711***	**0,743***	**0,644***	0,533	**0,644***	0,437	0,404	**0,733***	**0,669***	**0,851***
	p valor	**0,014**	**0,002**	**0,024**	0,140	**0,024**	0,155	0,171	**0,010**	**0,012**	**0,001**
AGCL placenta	r	**0,628***	0,248	0,306	0,269	0,306	0,405	0,160	0,092	0,240	0,476
	p valor	**0,029**	0,373	0,287	0,423	0,287	0,151	0,584	0,788	0,409	0,117
AGCL SM	r	**-0,658***	-0,429	-0,392	-0,426	-0,392	-0,364	-0,214	-0,575	-0,544	**-0,627***
	p valor	**0,028**	0,126	0,208	0,253	0,208	0,245	0,482	0,064	0,055	**0,039**
AGCL SC	r	-0,528	**-0,554***	**-0,648***	-0,514	**-0,648***	-0,483	**-0,584***	**-0,636***	-0,351	-0,506
	p valor	0,095	**0,040**	**0,023**	0,157	**0,023**	0,112	**0,036**	**0,036**	0,240	0,112
AA placenta	r	0,482	0,135	0,213	0,145	0,213	0,316	0,113	-0,159	0,096	0,300
	p valor	0,112	0,632	0,464	0,670	0,464	0,272	0,700	0,640	0,743	0,343
AA SC	r	-0,502	-0,516	**-0,596***	-0,357	**-0,596***	-0,387	**-0,596***	**-0,604***	-0,307	-0,551
	p valor	0,116	0,059	**0,041**	0,345	**0,041**	0,213	**0,031**	**0,049**	0,307	0,079
AA SM	r	-0,569	-0,212	-0,242	-0,289	-0,242	-0,310	0,032	-0,364	-0,407	-0,560
	p valor	0,068	0,467	0,449	0,451	0,449	0,327	0,917	0,271	0,168	0,073
Linoleico (w6) placenta	r	0,328	0,108	-0,121	0,019	-0,121	0,407	-0,122	0,170	0,327	0,413
	p valor	0,297	0,702	0,681	0,955	0,681	0,148	0,678	0,617	0,254	0,182
Linoleico SC	r	0,183	-0,129	-0,279	-0,058	-0,279	-0,217	-0,202	0,183	0,148	0,177
	p valor	0,591	0,661	0,380	0,883	0,380	0,498	0,509	0,590	0,630	0,602
Linoleico SM	r	-0,333	-0,023	-0,349	-0,153	-0,349	-0,355	0,012	-0,149	-0,016	-0,235
	p valor	0,317	0,939	0,266	0,694	0,266	0,257	0,969	0,661	0,960	0,486
EPA placenta	r	**0,660***	0,506	0,372	0,341	0,372	0,443	0,461	0,531	0,380	**-0,801***
	p valor	**0,038**	0,078	0,234	0,369	0,234	0,149	0,132	0,114	0,224	**0,005**
EPA SC	r	-0,172	-0,008	0,069	-0,059	0,069	0,016	0,307	0,012	-0,225	0,593
	p valor	0,612	0,977	0,830	0,880	0,830	0,962	0,308	0,973	0,460	0,054
EPA SM	r	-0,278	-0,284	-0,329	-0,053	-0,329	-0,352	**-0,558***	-0,407	0,041	0,357
	p valor	0,409	0,325	0,296	0,892	0,296	0,262	**0,048**	0,214	0,895	0,281

SM – sangue materno; SC- sangue do cordão EPA – ácido graxo eicosapentaenoico; DHA – ácido graxo docosahexaenoico; AA – ácido graxo araquidônico; AGCL – ácido graxo de cadeia longa. *A correlação é significativa ao nível de 0,05 (bilateral).

Dentre as características maternas e do recém-nascido (t**abela 7**), o comprimento do recém-nascido foi a variável que apresentou maior número de correlações significativas com as proteínas transportadoras de AG na placenta. O peso do recém-nascido, o peso da placenta e o perímetro cefálico mostraram número decrescente de correlações significativas com as proteínas estudadas. As variáveis comprimento e peso do recém-nascido mostraram forte correlação com as proteínas CD36 e LPL. Outras cinco correlações foram moderadas com as proteínas FATP 1, FATP 2, FABP 4, FABP 5 e FABPpm. No que concerne ao peso do recém-nascido, três correlações foram fortes com as proteínas FATP1, FABPpm e LPL. Outras três foram moderadas com as proteínas FATP 2, FABP 4 e CD36. O peso da placenta apresentou correlação significativa, moderada com as proteínas FATP 1 e FABPpm e, forte, com a proteína LPL. O perímetro cefálico apresentou correlação, exclusivamente, com a proteína LPL.

Tabela 7 - Correlação entre características da placenta e dos recém-nascidos e as proteínas transportadoras de ácidos graxos da placenta.

Características maternas e do recém-nascido		Proteínas									
		FATP1	FATP2	FATP3	FATP4	FATBP3	FABP4	FABP5	FABP pm	CD36	LPL
Comprimento do recém-nascido	r	**-0,613***	**-0,664***	-0,530	-0,305	-0,530	**-0,661***	**-0,674***	**-0,657***	**-0,756***	**-0,727***
	p valor	**0,034**	**0,007**	0,051	0,362	0,051	**0,010**	**0,008**	**0,028**	**0,002**	**0,007**
Perímetro cefálico	r	-0,392	-0,405	-0,351	-0,392	-0,351	-0,317	-0,530	-0,455	-0,309	**-0,638***
	p valor	0,208	0,134	0,219	0,233	0,219	0,269	0,051	0,160	0,282	**0,025**
Peso da placenta	r	**-0,692***	-0,430	-0,422	-0,470	-0,422	-0,501	-0,424	**-0,681***	-0,460	**-0,754***
	p valor	**0,013**	0,110	0,133	0,145	0,133	0,068	0,131	**0,021**	0,098	**0,005**
Peso do recém-nascido	r	**-0,813***	**-0,668***	-0,462	-0,371	-0,462	**-0,645***	-0,502	**-0,704***	**-0,661***	**-0,888***
	p valor	**0,001**	**0,006**	0,096	0,262	0,096	**0,013**	0,067	**0,016**	**0,010**	**0,000**

* A correlação é significativa ao nível de 0,05 (bilateral).

7. Discussão

O crescimento fetal caracteriza-se por uma sequência de processos que incluem diferenciação, crescimento e maturação de tecidos e órgãos, todos determinados pela disponibilidade materna e transferência placentária de substratos bem como pelo potencial genético de crescimento. Apesar de vários fatores estarem envolvidos no crescimento fetal, ainda não são bem conhecidos os mecanismos celulares e moleculares associados ao crescimento inadequado (RUDGE, 2005). Alterações no desenvolvimento fetal têm sido associadas com efeitos adversos à saúde do indivíduo ao longo da vida (LAGER; POWELL, 2012), e consiste em problema obstétrico de grande magnitude.

São denominados PIG aqueles que tem o peso estimado abaixo do percentil 10. O CIUR é a principal causa de PIG e está associado à elevada taxa de mortalidade fetal e neonatal (PEREIRA et al., 2014). A Incidência de PIG no Brasil se mantém constante nas duas últimas decadas, correspondedo a ¼ do total de recém nascidos (COSTA et al., 2013), porém, não indicam a incidência destes RN com estratificação pela IG. Este dado seria importante pois em nosso estudo tivemos dificuldade em encontar RN a termo com CIUR. Segundo Kenny e McCowan (2010), 40% dos partos de gestantes diagnosticadas com CIUR são interrompidos antes da 37ª semanas de gestação, uma vez que o risco de o feto permanecer no útero torna-se maior do que o de receber os cuidados na terapia intensiva.

Os AG são compostos biológicos importantes para o desenvolvimento fetal, pois têm funções como componentes estruturais de membranas celulares, energética ou são precursores de lipídios bioativos (prostaglandinas, tromboxinos e leucotrienos) (CETIN et

al., 2002 não parece ref adequada). Dentre os AGPI-CL, o DHA tem recebido maior atenção na última década, pois tem papel relevante no desenvolvimento fetal. O DHA modula a mielinização neuronal e a diferenciação de células tronco neurais para neurônios, promovendo o desenvolvimento do cérebro, nervos, fotorreceptores da retina e do sistema imune (AHMAD; MORIGUCHI; SALEM, 2002), além de estar intimamente envolvido com o crescimento fetal (INNIS, 2005; CETIN; ALVINO, 2009).

Considerando o envolvimento dos AGE bem como de seus metabólitos de cadeia longa e, especialmente, a importância do transporte placentário destes nutrientes, nos processos relacionados ao crescimento fetal, especulamos que as proteínas placentárias, responsáveis pela hidrólise, captação, translocação e transporte (intracelular, inclusive) desses AG para o feto, podem apresentar expressão distinta, na presença e ausência de CIUR. Maior expressão dessas proteínas, nas situações de crescimento intrauterino restrito, pode indicar mecanismo fisiológico de adaptação do órgão, na tentativa de garantir fornecimento aumentado dos AGE, e seus AGPI-CL correspondentes, ao feto. De modo a testar essa hipótese, investigamos o perfil de AG na placenta e nos compartimentos maternos-fetais eritrocitários e, também, a expressão gênica de proteínas envolvidas na captação e/ou transporte de AGPI-CL e AGE, de 23 mulheres adultas, que gestaram crianças nascidas a termo, com (n=8) ou sem (n=15) diagnóstico de CIUR (grupo CIUR e grupo controle, respectivamente).

A OMS ressalta, dentre os fatores capazes de influenciar o desfecho obstétrico, o número de gestações, a paridade, o intervalo interpartal e a idade materna (WHO, 2012). Quando observamos a idade materna em nosso estudo, verificamos que não foi diferente entre os grupos. No presente estudo encontramos nas mães CIUR menor prevalência de

paridade, ou seja, com mães com mais de um filho, em relação as mães controle, indicando neste grupo, maior número de primigestas. Segundo Silva e colaboradores (2009), em estudo realizado com 257.740 nascidos vivos no Sul do Brasil, a primiparidade contribui efetivamente para o aumento das taxas de RN PIG.

As gestantes pertenciam, em sua maioria, a famílias de baixa renda, apresentando renda mensal menor do que um salário mínimo *per capita*, independente do grupo estudado. Associação entre condições socioeconômicas e baixo peso ao nascer tem sido confirmada por vários autores (FRANCIOTTI; MAYER; CANCELIER, 2010; VETTORE et al., 2010). Arreola e colaboradores (2005), em estudo caso-controle, envolvendo 154 recém-nascidos com baixo peso e 474 com peso superior a 2500 gramas, encontraram forte associação entre baixo peso ao nascer e estrato socioeconômico, mantida, inclusive, após o controle de outras variáveis maternas como estado nutricional, paridade, tabagismo, morbidade durante a gestação, acesso aos serviços de saúde e cuidados pré-natal. Em contrapartida, Franceschini e colaboradores (2003), avaliando 77 gestantes, no último trimestre de gestação, residentes em uma favela em são Paulo, observou baixa prevalência de PIG (2,6%), apesar da alta exposição ao fator de risco, de baixo estrato econômico.

O período da gestação em que o ganho de peso materno tem maior influência sobre o crescimento fetal ainda é controverso (GODFREY; BARKER, 2001; COSTA; LEONE, 2009). O estado nutricional é determinado, principalmente, pela ingestão de nutrientes, seja em termos de macro ou micronutrientes assim como inadequado suprimento energético da gestante pode acarretar competição entre os organismos materno e fetal, limitando a disponibilidade de nutrientes essenciais para o apropriado crescimento fetal (COSTA et al., 2013; INNIS, 2014). Na presente investigação, o grupo CIUR apresentou ganho de peso

materno cerca de 35% menor do que o do grupo controle, apesar da observada adequação de peso pré-gestacional (IOM, 2009), bem como do IMC pré-parto (ATALAH et al., 1997), em ambos os grupos. Cabe ressaltar, no entanto, que o valor mediano, encontrado para o ganho de peso materno no grupo CIUR (11,5 Kg), atendeu aos limites preconizados para gestantes, independente do seu estado nutricional, onde o ganho de peso deve ser de 8 a 16 kg (SAUNDERS et al., 2002).

Segundo o *Institute of Medicine* (IOM, 2009), o ganho de peso materno deve guardar relação com a situação nutricional da gestante. São consideradas quatro categorias (baixo peso, peso adequado, sobrepeso e obesidade). No caso de gestantes eutróficas, a variação de ganho de peso esperada é entre 11 e 16 kg. Mais uma vez, o valor mediano, encontrado para a variável no grupo CIUR, alcançou os limites esperados.

Dada a complexidade da etiologia multifatorial do CIUR, a influência de fatores nutricionais na placentação não pode ser afastada. É reconhecido que nos dois primeiros trimestres da gestação, AGE e seus metabólitos de cadeia longa, provenientes da dieta materna, são acumulados no tecido adiposo da gestante. A mobilização desses compostos lipídicos, com expressiva liberação para a circulação materna, ocorre no último terço do período gestacional (DUTTAROY, 2009; HERRERA; LASUNCIÓN, 2011). Neste contexto, menores reservas adiposas maternas, acumuladas durante a gestação, sugerem concentrações de TG e AGPI-CL circulantes mais reduzidas. Menor disponibilidade destes compostos pode influenciar o desenvolvimento e crescimento fetal (COSTA et al., 2013).

A medida do perímetro cefálico do recém-nascido e o acompanhamento da evolução desta variável constituem métodos rápidos, simples e de baixo custo, que contribuem para

avaliar o desenvolvimento do sistema nervoso central, capazes de identificar crianças sob risco de alterações futuras de seu neurodesenvolvimento (GARCÍA-ALIX et al., 2004). A avaliação do perímetro cefálico dos recém-nascidos investigados no presente estudo mostrou que, no grupo CIUR, o valor médio desta medida foi cerca de 10% menor do que no controle, corroborando resultados encontrados por outros autores que também estudaram recém-nascidos apresentando CIUR. (Costa et al. 2009;Freitas et al., 2012).

Na população estudada, não encontramos RN que apresentassem severidade CIUR, que está associada com a proporcionalidade corporal, quanto maior a severidade, maior é a assimetria. Isto é quanto mais severo o agravo ao feto, maiores serão as consequências no seu crescimento, afetando, inclusive, de forma ainda mais aguda o comprimento do que o perímetro cefálico. Ou seja, o feto reagiria a um agravo intrauterino, primeiro com a perda de peso, depois com prejuizo comprimento e, por fim, com redução no crescimento da cabeça. Assim, como em nosso estudo todos os RN com CIUR a termo e do "tipo II", representado pelo concepto assimétrico, porém com menor severidade, o perímetro cefálico poderia ser normal ou pouco menor que o de crianças sem CIUR (LEÃO FILHO e LIRA , 2003).

O crescimento fetal é determinado por diferentes fatores. Adicionalmente aos genéticos, o ambiente intrauterino constitui elemento essencial capaz de modular processos biológicos, promovendo adaptações frente as suas diferentes condições. Neste contexto, o desenvolvimento e a capacidade funcional da placenta, destacam-se entre os fatores capazes de interferir no crescimento do feto (GIANINI; VIEIRA; MOREIRA, 2005). Estudos que investigaram parâmetros placentários relacionados à ocorrência de CIUR apontaram associação entre placentas de menor peso e risco aumentado para o desenvolvimento de

doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica, na vida adulta (BARKER et al., 1990; WILLS et al., 1996).

No presente estudo, o grupo CIUR apresentou placentas com massa inferior (cerca de 28%) a do grupo controle. No entanto, a razão peso placenta/peso fetal foi similar entre os grupos. Esses achados indicam que, no grupo CIUR, o peso fetal observado foi proporcional ao da placenta, sugerindo que a função placentária foi provavelmente preservada.

Os AGPI-CL podem ser sintetizados endógenamente a partir dos AGE, LA e ALA (RUSSO, 2009). As enzimas delta-5 e delta-6 dessaturases são limitantes, na cascata de dessaturação-alongamento, para a síntese de AGPI-CL (ABBOTT et al., 2012). Diferentes publicações científicas corroboram o reconhecimento de que, tanto a placenta, como os tecidos fetais, apresentam baixa atividade de ambas estas enzimas. No entanto, o tema permanece controverso (CAMPBELL et al., 1996; DUTTAROY, 2000; HAGGARTY, 2002; BITSANIS et al., 2006; INNIS, 2007; MUTHAYY et al., 2009; KARR; ALEXANDER; WINNINGHAM, 2011).

Há evidências de que o feto, incluindo aquele prematuro, é capaz de sintetizar AA e DHA, a partir de seus respectivos precursores (LA e ALA). Apesar da efetiva quantidade de AGPI-CL, proveniente desta síntese, não ter sido estabelecida (CARNIELLI et al., 1996), já foi descrita a presença das dessaturases, necessárias para a conversão dos AGPI-CL, no feto, bem como sua atividade, no fígado de recém-nascidos (CHAMBAZ et al., 1985; POISSON et al., 1993; RODRIGUEZ et al., 1998a; RODRIGUEZ et al., 1998b). Recentemente, foi demonstrado que os teores de AA no sangue do cordão umbilial têm origem, em grande parte, na bioconversão de LA em AA, no organismo fetal. Entretanto, para o DHA, não foi

observada bioconversão expressiva, a partir do ALA (LATTKA et al., 2013). Estes achados são sugestivos de significativa participação do metabolismo fetal na síntese de AA, mas não de DHA. A este respeito, em nosso estudo, foi observada maior bioconversão de ALA em DHA no grupo CIUR. Este resultado pode constituir indício da existência de ajustes adaptativos da placenta, destinados a garantir o fornecimento de quantidades mais adequadas de DHA ao feto com crescimento intrauterino restrito.

No presente estudo, foram observados, em ambos os grupos estudados, teores mais elevados de AA no sangue do cordão, comparativamente ao sangue materno. De outro modo, o conteúdo de DHA foi similar nestes dois compartimentos sanguíneos, também em ambos os grupos. De fato, tem sido sugerido que as concentrações de DHA no cordão umbilical associam-se positivamente com os teores deste AGPI-CL no sangue materno (HENDRICKSE; STAMMERS; HULL, 1985; DUTTAROY, 2009) e também são influenciadas pela dieta materna (DUNSTAN et al., 2004; KRAUSS-ETSCHMANN et al., 2007). Neste sentido, nossos resultados suportam a hipótese de que o fornecimento de DHA para o feto depende dos teores circulantes maternos tendo em vista que a síntese endógena deste AG é limitada em recém-nascidos. O suprimento de AA para o feto, entretanto, depende mais da bioconversão que ocorre na unidade feto-placentária.

Outrossim, na placenta humana, maior seletividade para o transporte de ácidos graxos específicos tem sido sugerida como mecanismo capaz de justificar proporções mais elevadas de AGPI- CL na circulação fetal, em relação à materna (DUTARROY, 2009), conforme também observado no presente estudo, quando comparados os teores totais de AGPI-CL, em ambos os grupos investigados. No entanto, a acumulação preferencial de AGPI-CL no sangue fetal, em relação ao materno, pode ser resultado da combinação de diferentes fatores,

incluindo-se, ingestão alimentar materna; estoque destes lipídios, acumulado no tecido adiposo, ao longo dos dois primeiros terços da gestação, e respectiva mobilização no último terço do período gestacional; taxa de síntese, a partir dos ácidos graxos essenciais, no fígado fetal bem como outros processos metabólicos placentários, além da seletividade específica, como efetiva captação e transporte de AG. A alteração de um ou mais de um destes fatores, potencialmente compromete o suprimento fetal de AGPI-CL (LAKIN et al., 1998; HAGGARTY, 2002; GIL-SÁNCHEZ; KOLETZKO; LARQUÉ, 2012).

É possível considerar que, primariamente, o fornecimento de AGPI-CL para o feto, através da placenta, depende da ingestão alimentar materna (GIL-SÁNCHEZ; KOLETZKO; LARQUÉ, 2012). Reduzida ingestão dietética de DHA mostrou se associar positivamente com menor razão DHA/linolênico nos eritrócitos das mães (LAKIN et al., 1998). Encontramos, na presente investigação, menores concentrações de AA, DHA bem como da razão DHA/linolênico e AA/linoleico, nos eritrócitos do sangue maternos do grupo CIUR, quando comparados aos do grupo controle, sugerindo diferenças, entre grupos, com relação ao estado nutricional materno de AA e DHA. Não foram realizados inquéritos dietéticos com as gestantes participantes de ambos os grupos, no entanto, reduzida ingestão de alimentos fontes de AGPI-CL, especialmente de DHA, tem sido reportada por diferentes autores, que investigaram gestantes e/ou lactantes brasileiras, residentes em regiões urbanas (PONTES et al., 2006; TORRES; TRUGO, 2009; OLIVEIRA et al., 2012). Adicionalmente, os dados mais recentes sobre a disponibilidade alimentar domiciliar no Brasil, reforçam a hipótese do consumo inadequado de alimentos que são fontes de DHA (IBGE, 2011).

A importância desses achados reforça a relevância da assistência nutricional no pré-natal, no sentido de assegurar orientação quanto às medidas dietéticas necessárias para

viabilizar adequado suprimento de AGPI-CL, principalmente DHA, durante a gestação. Nas gestações complicadas com CIUR, este aspecto da atenção nutricional deve merecer cuidado mais acentuado, considerando que o déficit de DHA, durante o desenvolvimento perinatal, pode promover alterações no desenvolvimento cerebral, visual e cognitivo das crianças (INNIS, 2008). Alguns autores recomendam suplementação de DHA durante a gestação, principalmente quando a ingestão dietética materna é inadequada (KOLETZKO et al., 2008; INNIS, 2008). Além disso, foi recentemente relatado que a suplementação de DHA, durante a gestação, pode melhorar o controle da função cardíaca e a cognição em fetos humanos (GUSTAFSON et al., 2013).

Cabe destacar, no entanto, que em situações de gestações com CIUR, a atividade das dessaturases pode estar comprometida, mesmo entre mulheres com estado nutricional supostamente adequado, em razão da insuficiência placentária e/ou de perturbações metabólicas, que acometem neonatos com CIUR, como hipoglicemia, hipoinsulinemia, concentrações circulantes elevadas de adrenalina e glicocorticoides (FELTON et al., 1994). Em modelos animais de CIUR, a insuficiência placentária está associada a anormalidades no metabolismo lipídico hepático e do músculo esquelético fetal (LANE et al., 2003; HANEBUTT et al., 2008). Adicionalmente, já foi demonstrada menor conversão enzimática de DPA (ácido docosapentaenóico) em DHA e comprometimento do suprimento de AGPI-CL entre recém-nascidos que apresentavam CIUR (LLANOS et al., 2005). Desta forma, é possível supor o envolvimento destes processos, justificando os teores mais reduzidos de AA e DHA, no sangue do cordão umbilical dos neonatos com CIUR, comparados ao grupo controle, observados no presente estudo.

Os mecanismos moleculares e regulatórios responsáveis pela concentração seletiva de AGPI-CL no sangue fetal, em relação ao sangue materno, não estão esclarecidos. Já foi descrito que a maior expressão de FATP4 se correlaciona positivamente com os teores de DHA do sangue do cordão umbilical, podendo constituir importante mecanismo para manter a captação de DHA (LARQUÉ et al., 2006). Adicionalmente, a expressão dos genes FATP-1 e FAT/CD36 sofre modulação por vários fatores, entre eles, AG dietéticos, hormônios, como a insulina, bem como proteínas nucleares denominadas PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*, receptor ativado por proliferadores de peroxissoma) (CUNNINGHAM; MCDERMOTT, 2009; ANDERSON; STAHL, 2013).

FATPs são expressas em placentas humanas (LARQUÉ et al., 2006) e reconhecidas como proteínas de captação e transporte de AG. Maior expressão destas proteínas eleva a taxa de internalização de AG, especialmente quando estes lipídeos estão presentes em concentrações reduzidas, uma vez que, nesta condição, o mecanismo de transporte por difusão passiva não é suficiente para a sua assimilação (DUTTAROY, 2000; 2009). Considerando nossos resultados relativos ao conteúdo total de AGPI nos eritrócitos maternos, mais reduzido no grupo CIUR, comparado ao grupo controle, ponderamos a hipótese de que a expressão das FATP, em placentas do grupo CIUR, poderia estar favorecida, indicando mecanismo compensatório. Além disso, já foi sugerido que FATP agem em conjunto com a ACS enzima que favorece a esterificação dos AG, por meio da conversão destas moléculas em ésteres de acylCoA. Este processo impede a saída destes compostos lipídicos da placenta, favorecendo, assim, a retenção de AG neste tecido (DUTTAROY, 2009; ZHAN et al., 2012).

A comparação das concentrações dos diferentes ácidos graxos nas placentas de ambos os grupos estudados não revelou diferenças significativas, inclusive em termos de AGPI-CL.

Já foi descrita a existência de respostas adaptativas, envolvendo a transferência placentária de AG (CETIN; ALVINO, 2009). A placenta funciona como “sensor nutricional”, capaz de responder as modificações decorrentes da ingestão alimentar materna ou do fluxo sanguíneo placentário, alterando a atividade e/ou expressão dos transportadores de nutrientes e, portanto, modulando seu próprio suprimento de AG, dependendo da demanda fetal (HANEBUTT et al., 2008; GACCIOLI et al., 2013).

Utilizamos RT-PCR para avaliar a expressão dos genes de diferentes proteínas envolvidas no metabolismo de AG em homogenatos de tecido placentário dos grupos controle e CIUR. Maior expressão de mRNA das proteínas transportadoras, FATP (1, 2 e 4), da proteína de translocação, CD36, e das proteínas ligantes de AG, FABP (3 e 4), bem como da enzima LPL placentária, foi observada no grupo CIUR, embora não tenham sido identificadas diferenças nas concentrações de AGE e de AGPI-CL, nos lipídios totais das placentas de ambos os grupos. Adicionalmente, encontramos concentrações mais reduzidas de AA e de DHA nos eritrócitos do sangue do cordão do grupo CIUR, em comparação ao grupo controle.

Estes achados sustentam a hipótese de que, nas gestações complicadas com CIUR, ocorrem adaptações em mecanismos moleculares capazes de favorecer maior expressão das proteínas de membrana FATP 1, 2 e 4, envolvidas na captação e transporte de AG para o interior dos trofoblastos da placenta e, associada a essas alterações, FABP 3 e 4, citosólicas, essenciais para o efetivo transporte e metabolismo dos AG na placenta, também passam a apresentar maior expressão. É plausível supor que, o aumento da expressão dessas proteínas, não configura adaptação suficiente capaz de resultar em teores mais elevados de AGE e

AGPI-CL na circulação fetal do grupo CIUR, que permanecem inferiores, comparados aos do grupo controle.

Cetin e colaboradores (2002) encontraram menor proporção de AA e DHA, em relação aos seus respectivos precursores, LA e ALA, no plasma do cordão umbilical de neonatos, comparado ao materno, cuja idade gestacional ao nascimento variou entre 19 e 34 semanas, diagnosticados com CIUR.

Estudos envolvendo RT-PCR para proteínas transportadoras de AG em placentas de gestações que evoluíram com CIUR são escassos. Magnusson e colaboradores (2004) quantificaram, por *Western Blotting* (WB), as proteínas citosólicas placentárias FABP 1 e FABP, a partir de homogenatos do tecido placentario, obtidos de gestações que evoluíram com CIUR e de um grupo controle. Os autores não observaram diferenças significativas entre os grupos. É reconhecida a similaridade da estrutura molecular dos membros pertencentes à família das FABP (STORCH; MCDERMOTT, 2009), de modo que é possível que a inespecificidade dos anticorpos empregados tenha permitido a quantificação de vários tipos de FABP como sugerido por Duttaroy (2009). No entanto, com a técnica de RT-PCR foi possível a utilização de *primers* específicos para as FABP 3, 4 e 5, que nos permitiram a obtenção de resultados fidedignos acerca da expressão dos trancritos destas proteínas nas placentas dos grupos controle e CIUR.

Foi recentemente demonstrado que a placenta humana expressa várias enzimas envolvidas no metabolismo lipídico como a extracelular Lipase lipoproteica (LPL) e as intracelulares, a lipase endotelial (EL) e a lípase hormônio sensível (HSL) (BARRET et al., 2014). Os AG, provenientes da circulação materna, estão presentes como AGL ligados à

albumina ou incorporados em lipoproteínas, principalmente VLDL. A ação da LPL placentária promove a dissociação destes AG das lipoproteínas, permitindo sua captação placentária (GIL-SÁNCHEZ et al., 2011) e portanto, atua na etapa inicial da transferência dos AG para a placenta (HANEBUTT et al., 2008). A EL por sua vez, atua principalmente na ligação *sn*-1 dos fosfolipídeos liberando ácidos graxos e lisofosfolipídeos enriquecidos com AGPI-CL.

Em nosso estudo, nós avaliamos somente a expressão da LPL e encontramos maior expressão dessa enzima no tecido placentário do grupo CIUR. Biale (1985) reportou aumento da atividade da LPL, paralelamente ao decréscimo na atividade da lipase intracelular em placentas de gestações com CIUR ou severa pré-eclâmpsia, em comparação àquele cujo desfecho resultou em neonatos adequados em crescimento. Tabano e colaboradores (2006) também descreveram maior expressão da LPL placentária, entretanto, somente nos casos graves de CIUR, com fluxo sanguíneo anormal no cordão umbilical. Magnusson e colaboradores (2004) demonstraram em estudos anteriores redução na atividade da LPL nos microvilos da membrana das placentas em CIUR prematuros em comparação com controles pre-termo. È provável que o aumento da expressão da LPL observado em nosso estudo poderia representar um mecanismo compensatório na placenta para a menor atividade da LPL em gestações com CIUR, como já previamente apontado por Tabano e colaboradores (2006). No entanto, investigação complementar da atividade enzimática da LPL placentária faz-se necessário no presente estudo para comprovar essa hipótese.

Buscamos testar a existência, ou não, de relação entre as variáveis antropométricas dos neonatos e a expressão das proteínas placentárias, transportadoras de AG e a enzima LPL, de ambos os grupos investigados. Verificamos, para o peso e comprimento ao nascer,

correlações negativas com as proteínas FATP1 e 2, FABP4 e FABPpm, CD36 e a LPL. A FABP5 também mostrou correlação negativa com o peso ao nascer. Estes resultados são sugestivos de que, quanto menores são as dimensões do recém-nascido, maior é o esforço no sentido de aumentar as chances do suprimento mais efetivo de AG, buscando desfecho gestacional mais favorável. Não encontramos correlações significativas entre o perímetro cefálico e a expressão das proteínas investigadas, exceto para a LPL, que também foi negativa.

Considerando o aumento significativo da expressão das proteínas FATP 1, 2 e 4, FABP3 e 4, FABPpm e CD36 e da LPL, no grupo CIUR. Considerando, ademais, que as placentas de menor massa também pertenciam a este grupo, e ainda, que o peso fetal foi proporcional ao peso da placenta, em ambos os grupos, conforme anteriormente referido nessa seção, é possível especular a ocorrência de esforço no grupo CIUR para manter a função placentária. Neste sentido, verificamos a existência de correlação negativa entre o peso da placenta e as proteínas FATP1 e FABPpm e a LPL, indicando que, quanto menor o peso da placenta, maior a expressão destas proteínas envolvidas no transporte e metabolismo de compostos lipídicos de fundamental importância para o adequado crescimento e desenvolvimento fetal.

Adicionalmente, testamos correlações entre os teores de DHA, ALA, AGPI-CL, AA, LA e EPA quantificados na placenta e eritrócitos maternos e do neonato, e a expressão das proteínas placentárias FATP 1, 2, 3 e 4; FABP 3, 4 e 5; FABPpm; CD 36 e LPL.

O conteúdo de DHA nos eritrócitos do sangue do cordão apresentou correlação negativa com a totalidade das proteínas estudadas. Na placenta, o precursor desse AGPI-CL,

ALA, se comportou de forma semelhante, exceto que para a FABP 5, não foi identificada correlação significativa. Enquanto que, este mesmo AG, nos eritrócitos maternos, se correlacionou positivamente com a expressão de todas as proteínas, exceto a FATP 4, FABP 4 e 5.

Em conjunto, esses resultados nos permitem supor que, quanto mais elevadas as concentrações de ALA no sangue materno, maior o estímulo para a expressão de proteínas placentárias envolvidas no transporte de AG. Entretanto, se ainda assim, o transporte deste AG, do sangue materno para a placenta, não for suficiente, resultando em concentrações reduzidas neste tecido, ocorre estímulo local para a expressão das proteínas transportadoras. A essencialidade da presença do precursor para a formação de DHA, e consequente suprimento fetal, deve justificar estes achados Quando observamos o comportamento referente às correlações entre o LA e a expressão dessas mesmas proteínas, nenhum resultado significativo pôde ser identificado, em nenhum dos tecidos analisados. Neste caso, apesar do LA ser o precursor do AA, a síntese endógena deste AGPI-CL é mais eficiente do que a atribuída para a conversão de ALA em DHA (LATTKA et al., 2013).

Também verificamos correlações negativas entre a concentração de AA nos eritrócitos do cordão e a expressão de todas as proteínas investigadas, embora significativas, apenas para a FATP 3, FABP 3 e 5 e FABP pm. É possível que a competição do AA e EPA pelas FABP justifique estes achados. Larqué e colaboradores (2006) mostraram que, mesmo com concentrações reduzidas de AA no sangue materno, ocorre maior expressão das proteínas.

A análise global dos resultados encontrados na presente investigação, fortalece e reforça o reconhecimento da essencialidade do DHA para o adequado crescimento fetal. Reduzidas concentrações deste AGPI-CL, especialmente no sangue do feto, conforme verificado nesse estudo, se correlacionam fortemente com o aumento da expressão do mRNA de proteínas placentárias envolvidas na sua captação e transporte, possivelmente em razão da necessidade de aumentar a disponibilidade deste AG para o feto. Contudo, no grupo CIUR, encontramos menores concentrações de DHA nos eritrócitos, tanto maternos, quanto do sangue do cordão. Diferentes fatores podem estar envolvidos nesta resposta, incluindo inadequação dietética materna. Ainda que não foram realizados inquéritos dietéticos com essa população estudada, no entanto, a menor ingestão de alimentos fontes de AGPI-CL, principalmente DHA, foi recentemente reportado por Oliveira e colaboradores (2012); em outros estudos brasileiros em regiões urbanas com mulheres gestantes e/ou lactantes (PONTES et al., 2006; TORRES; TRUGO, 2009). Neste sentido, cabe reflexão acerca da propriedade do estabelecimento de recomendações específicas para a suplementação de DHA, durante gestações com diagnóstico de CIUR, cujas doses, e período de administração, exigem estudos adicionais.

Neste contexto, cabe considerar algumas limitações do presente estudo. Ainda que a utilização do conteúdo de AG em eritrócitos constitua biomarcador capaz de refletir a ingestão de lipídios em médio prazo, a associação destes resultados com a avaliação do consumo de fontes dietéticas de AGE e AGPI-CL, por meio da realização de inquérito dietético, permitiria maior acurácia frente às inferências apontadas. Cabe ressaltar, ainda, o fato de que as análises relativas à expressão das proteínas transportadoras de AG bem como da LPL foram realizadas em homogenatos placentários. É possível que os resultados

encontrados não representem condições específicas na membrana plasmática do sinciciotrofoblasto. Adicionalmente, as alterações verificadas na expressão dos genes das proteínas avaliadas, podem constituir reflexo da menor/maior quantidade ou atividade destas proteínas, exigindo análises complementares.

8. Conclusão

Investigamos em puérperas, e seus recém-nascidos, com e sem CIUR (grupos CIUR e controle, respectivamente), o perfil de AG na placenta e nos compartimentos materno-fetais eritrocitários assim como a expressão gênica de proteínas placentárias (FATPs 1,2,3 e 4; FABPs 3, 4 e 5; FABPpm, CD 36 e LPL) envolvidas na captação e/ou transporte de AGE e AGPI-CL.

Os resultados obtidos mostraram maior expressão de todas as proteínas estudadas em placentas do grupo CIUR, comparativamente as do grupo controle, no entanto, esta elevada expressão não resultou em concentração aumentada de AGE e de AGPI-CL nos lipídios totais das placentas deste grupo.

Considerados ambos os grupos, foi identificada correlação negativa entre o conteúdo de DHA do sangue do cordão e a expressão de todas as proteínas investigadas, sugerindo mecanismo de ajuste fisiológico do tecido placentário, na tentativa de garantir o fornecimento dos AGE e AGPI-CL ao feto.

No entanto, a disponibilidade de AGPI-CL para a circulação fetal se mostrou menos eficiente no grupo CIUR, uma vez que os eritrócitos deste grupo, tanto maternos, quanto fetais, apresentaram menores concentrações de AA, DHA e da razão DHA/ALA, comparados aos do grupo controle.

Esses achados, no seu conjunto, contribuem para o avanço da compreensão dos processos moleculares placentários, relacionados ao metabolismo de ácidos graxos, que parecem ocorrer, de forma distinta, nas gestações que resultam em CIUR.

É possível elencar diferentes fatores capazes de justificar a, aparentemente, insuficiente incorporação de AGPI-CL nos eritrócitos do cordão de neonatos com CIUR, incluindo, (1) ingestão alimentar materna inadequada; (2) reduzido armazenamento destes AG no tecido adiposo acumulado nos dois primeiros terços da gestação; (3) alterações metabólicas placentárias; (4) diminuída bioconversão, a partir dos AGE, nos tecidos placentários e fetais e (5) reduzida captação e transporte placentário, incluindo alteração na expressão e/ou quantidade dos transportadores. A exploração destes processos, bem como da relação entre eles, exige investigações futuras.

REFERÊNCIAS

Abbott SK, Else PL, Atkins TA, Hulbert AJ. Fatty acid composition of membrane bilayers: importance of diet polyunsaturated fat balance. Biochim Biophys Acta 2012;1818(5):1309-17.

Ahmad A, Moriguchi T, Salem N. Decrease in neuron size in docosahexaenoic acid-deficient brain. Pediatr Neurol 2002;26(3):210-8

American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG. Intrauterine growth restriction. ACOG practice bulletin no. 12. Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists, 2000.

Anderson CM, Stahl A. SLC27 fatty acid transport proteins. Mol Aspects Med 2013;34(2-3):516-28.

Arreola, L. P. T. Casas, P. C.; Bernández, S. F.; Barragán, J. P. V.; Macías, E. R. Socioeconomic factors and low birth weight in Mexico. Public Health, 2005; v.20, n.5, p. 1-7.

Atalah E, Castilo C, Castro R, Aldea A. Proposal of a new standert for the nutricional assessment of pregnant women. Rev Med Chil 1997;125(12):1429-36

Barker DJ, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. BMJ 1990;301(6746):259-62.

Barker DJ, Eriksson JG, Forsén T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. Int J Epidemiol 2002;31(6):1235-9.

Barrett HL, Kubala MH, Scholz Romero K, Denny KJ, Woodruff, McIntyre HD et al. Placental Lipases in Pregnancies Complicated by Gestational Diabetes Mellitus (GDM). PLoS One 2014;9(8):e104826.

Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. J Pediatr 1967;71(2):159-63.

Benirschke K, Kaufmann P. The pathology of the human placenta, 4th ed. New York: Springer- ... Arch Pathol Lab Med 1997; 121:449-472. 6

Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol 2000;182(1):198-206.

Biale Y. Lipolytic activity in the placentas of chronically deprived fetuses. Acta Obstet Gynecol Scand 1985;64(2):111-4.

Bildirici I, Roh CR, Schaiff WT, Lewkowski BM, Nelson DM, Sadovsky Y. The lipid droplet-associated protein adipophilin is expressed in human trophoblasts and is regulated by peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma/retinoid X receptor. J Clin Endocrinol Metab 2003;88(12):6056-62.

Bitsanis, D., K. Ghebremeskel, T. Moodley, M. Crawford, and O. Djahanbakhch. Gestational diabetes mellitus enhances arachidonic and docosahexaenoic acids in placental phospholipids. Lipids. 2006; 41 (4): 341–346.

Bortolotto MRF, Bortolotto LA, Zugaib M. Hipertensão e gravidez: fisiopatologia. Hipertensão. 2008; 11(1): 9–13.

Botero D; Lifshitz F. Intrauterine growth retardation and long-term effects on growth. Curr Opin Pediatr. 1999 August; 11(4): 340–347.

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

Campbell DM, Hall MH, Barker DJP, Cross J, Shiell AW, Godfrey KM. Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later. Brit J Obstet Gynaecol. 1996;103:273–280.

Carnielli VP, Wattimena DJ, Luijendijk IH, Boerlage A, Degenhart HJ, Sauer PJ. The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexaenoic acids from linoleic and linolenic acids. Pediatr Res 1996;40(1):169-74.

Cetin I, Alvino G. Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport. A review. Placenta 2009;30(Suppl A):S77-82.

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 2002;52(5):750-5.

Cetin I, Mandò C, Calabrese S. Maternal predictors of intrauterine growth restriction. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2013;16(3):310-9.

Chambaz J, Ravel D, Manier MC, Pepin D, Mulliez N, Bereziat G. Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver. Biol Neonate 1985;47(3):136-40.

Chernyavsky IL, Leach L, Dryden IL, Jensen OE. Transport in the placenta: homogenizing haemodynamics in a disordered medium. Philos Trans A Math Phys Eng Sci 2011;369(1954):4162-82.

Costa IT, Leone CR. Influência do crescimento intrauterino restrito sobre a evolução nutricional e crescimento de recém-nascidos pré-termo até a alta hospitalar. Rev Paul Pediatr 2009;27(1):15-20.

Costa RS, Caldevilla DE, Gallo PR, Sena BF, Leone C. Incidence and characteristics of insufficient birth weight newborns from a cohort of neonates in a public regional hospital of a metropolitan area. J Hum Growth and Dev 2013;23(2):238-44.

COSTA, Igor Tadeu da; LEONE, Cléa Rodrigues. Influência do crescimento intrauterino restrito sobre a evolução nutricional e crescimento de recém-nascidos pré-termo até a alta hospitalar. **Rev. paul. pediatr.** São Paulo, 2010; v. 27, n. 1, Mar.

Cross JC, Mickelson L, Nutritional Influences on Implantation and Placental Development, Nutrition Reviews, 2008, 64, S12.

Cunningham P, McDermott L. Long chain PUFA transport in human term placenta. J Nutr 2009;139(4):636-9.

Curr Opin Pediatr. 1999 Aug;11(4):340-7. Intrauterine growth retardation and long-term effects on growth. Botero D, Lifshitz F. Differentiation. 2006 Sep;74(7):393-401.

Dancey CP, Reidy J. Estatística Sem Matemática para psicologia: Usando SPSS para Windows. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

Donnelly L, Campling G. Functions of the placenta. Anaesth Intensive Care Med 2008;9(3):124-7.

Dunstan J.A., Roper J., Mitoulas L., Hartmann P.E., Simmer K., Prescott S.L. The effect of supplementation with fish oil during pregnancy on breast milk immunoglobulin A, soluble CD14, cytokine levels and fatty acid composition. Clinical & Experimental Allergy, 34 (2004), pp. 1237–1242.

Duttaroy AK, Taylor J, Gordon MJ, Hoggard N, Campbell FM. Arachidonic acid stimulates internalisation of leptin by human placental choriocarcinoma (BeWo) cells. Biochem Biophys Res Commun 2002;299(3):432-7.

Duttaroy AK. Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. Am J Clin Nutr 2000;71(1 Suppl):315S-22S.

Duttaroy AK. Transport of fatty acids across the human placenta: a review. Prog Lipid Res 2009;48(1):52-61.

Enzi G, Zanardo V, Caretta F, Inelmen EM, Rubaltelli F. Intrauterine growth and adipose tissue development. Am J Clin Nutr 1981;34(9):1785-90.

Felton CV, Crook D, Davies MJ, Oliver MF. Dietary polyunsaturated fatty acids and composition of human aortic plaques. Lancet 1994;344(8931):1195-6.

Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957;226(1):497-509.

Fonseca SC, Coutinho ESF. Características biológicas e evitabilidade de óbitos perinatais em uma localidade na cidade do Rio de Janeiro, 1999 a 2003. Rev Bras Saude Mater Infant 2008;8(2):171-8.

Franceschini SCC, Priore SE, Pequeno NPF, da Silva DG, Sigulem DM. Risk factors for low birth weight among low-income pregnant women. Rev Nutr 2003;16(2):171-9.

Franciotti DB, Mayer GN, Cancelier ACL. Fatores de risco para baixo peso ao nascer: um estudo de caso-controle. ACM 2010;39(3):63-9.

Freitas BAC, Sant'ana LFR, Priore SE, Barros JFNe, Franceschini SCC. Crescimento do prematuro: revisão sobre as curvas de referência. - Revista de Pediatria SOPERJ. 2012;13(1):46-15.

Fridman FZ. Níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico em gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia, em Porto Alegre/RS [dissertacion]. Porto Alegre: Faculdade de Medicina/UCRS; 2005. 87 p.

Friedman, S., Gans, B., Eckerling, B., Goldman, J., Kaufman, H. and Rumnny, M. Placental hormone activity after removal of the fetus in a case of advanced abdominal pregnancy. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology 1969; 76: 554–558.

Gaccioli F, Lager S, Powell TL, Jansson T. Placental transport in response to altered maternal nutrition. J Dev Orig Health Dis 2013;4(2):101-15.

Gadonski G, Irigoyen MCC. Aspectos fisiológicos da hipertensão arterial na gravidez. Hipertensão 2008;11(1):4-8.

Garcia A, Azoubel R. A Placenta humana – Morfologia e patologia fetal e perinatal. Rio de Janeiro: Atheneu; 1986,

García-Alix A, Sáenz-de Pipaón M, Martínez M, Salas-Hernández S, Quero J. Utilidad del perímetro cefálico em el recién nacido para antecipar problema s em el neurodesarrollo. Rev Neurol 2004;39(6):548-54.

Gianini NM, Vieira AA, Moreira ME. Avaliação dos fatores associados ao estado nutricional na idade corrigida de termo em recém-nascidos de muito baixo peso. J Pediatr 2005;81(1):34-40.

Gil-Sánchez A, Demmelmair H, Parrilla JJ, Koletzko B, Larqué E. Mechanisms involved in the selective transfer of long chain polyunsaturated Fatty acids to the fetus. Front Genet 2011;2:57.

Gil-Sánchez A, Koletzko B, Larqué E. Current understanding of placental fatty acid transport. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2012;15(3):265-72.

Godfrey KM, Barker DJ. Fetal programming and adult health. Public Health Nutr 2001;4 (2B):611-24.

Goldenberg RL, Cliver SP. Small for gestational age and intrauterine growth restriction: definitions and standards. Clin Obstet Gynecol 1997;40(4):704-14.

Gundogan F, Elwood G, Mark P, Feijoo A, Longato L, Tong M et al. Ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in rat placenta: relevance to pregnancy loss. Alcohol Clin Exp Res 2010;34(3):415-23.

Gustafson KM, Carlson SE, Colombo J, Yeh HW, Shaddy DJ, LI S et al. Effects of docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy on fetal heart rate and variability: a randomized clinical trial. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2013;88(5):331-8.

Haggarty P, Ashton J, Joynson M, Abramovich DR, Page K. Effect of maternal polyunsaturated fatty acid concentration on transport by the human placenta. Biol Neonate 1999;75(6):350-9.

Haggarty P. Placental regulation of fatty acid delivery and its effect on fetal growth – a Review. Placenta 2002;16(Suppl A):S28-38.

Hanebutt FL, Demmelmair H, Schiessl B, Larqué E, Koletzko B. Long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) transfer across the placenta. Clin Nutr 2008;27(5):685-93.

Hendrickse W, Stammers JP, Hull D. The transfer of free fatty acids across the human placenta. Br J Obstet Gynaecol 1985;92(9):945-52.

Hennekens CH, Buring JE. Epidemiology in medicine. USA: Little, Brown and Company, 1987. 383pp.

Herrera E, Lasunción MA. Maternal-fetal transfer of lipid metabolites. In: Fetal and Neonatal Physiology. 2011. 4th ed. Polin RA, Fox WW, Abman SH eds. pp. 441-54.

Herrera E. Implications of dietary fatty acids during pregnancy on placental, fetal and postnatal development – a review. Placenta 2002;23(Suppl A):S9-19.

Innis SM. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. Brain Res 2008;1237:35-43.

Innis SM. Essential fatty acid transfer and fetal development. Placenta 2005;26(Suppl A):S70-5.

Innis SM. Fatty acids and early human development. Early Hum Dev 2007;83(12):761-6.

Innis SM. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. Am J Clin Nutr 2014;99(3):734S-41S.

Institute of Medicine - IOM. National Academy of Science. Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines. Washington: National Academy Press, 2009.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE/Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil. 2011. 25p.

Jansson T, Myatt L, Powell TL. The role of trophoblast nutrient and ion transporters in the development of pregnancy complications and adult disease. Curr Vasc Pharmacol 2009; 7(4):521-33.

Jones HN, Powell TL, Jansson T. Regulation of placental nutrient transport – a review. Placenta 2007;28(8-9):763-74.

Kanazawa S. Evolutionary psychology and intelligence research. Am Psychol 2010;65(4):279-89.

Kaplan CG. Gross pathology of the placenta: weight, shape, size, colour. J Clin Pathol 2008; 61:1285–1295.

Karr JE, Alexander JE, Winningham RG. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cognition throughout the lifespan: a review. Nutr Neurosci 2011;14(5):216-25.

Kaufmann RL, Paterson WR, Frank LA. Pressure, volume, density relationships in the plasma sheet. J Geophys Res 2004;109:A08204.

Kenny LC, McCowan L. Induction of labour for intrauterine growth restriction at term. BMJ 2010;341:c6768.

Kierszenbaum AL. Histologia e Biologia Celular uma Introdução a Patologia. Ed: Elsevier. 2004. 654p.

Knipp GT, Audus KL, Soares MJ. Nutrient transport across the placenta. Adv Drug Deliv Rev 1999;38(1):41-58.

Koletzko B, Lien E, Agostoni C, Böhles H, Campoy C, Cetin I et al. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. J Perinat Med 2008;36(1):5-14.

Krauss-Etschmann S et al. Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. American Journal of Clinical Nutrition, 2007, 85(5):1392–400.

Lager S, Powell TL. Regulation of nutrient transport across the placenta. J Pregnancy 2012;2012:179827.

Lakin V, Haggarty P, Abramovich DR, Ashton J, Moffat CF, McNeill G et al. Dietary intake and tissue concentration of fatty acids in omnivore, vegetarian and diabetic pregnancy. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1998;59(3):209-20.

Lane RH, Maclennan NK, Daood MJ, Hsu JL, Janke SM, Pham TD et al. IUGR alters postnatal rat skeletal muscle peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 gene expression in a fiber specific manner. Pediatr Res 2003;53(6):994-1000.

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 2003;44(1):49-55.

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 (HFABP) genes in human term placenta. Early Hum Dev 2006;82(10):697-701.

Lattka E, Koletzko B, Zeilinger S, Hibbeln JR, Klopp N, Ring SM et al. Umbilical cord PUFA are determined by maternal and child fatty acid desaturase (FADS) genetic variants in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC) Br J Nutr 2013;109(7):1196-210.

Leão Filho JC, Lira PI. Estudo da proporcionalidade corporal de recém-nascidos a termo segundo o Índice Ponderal de Rohrer e grau de retardo de crescimento intrauterino. Cad Saúde Pública 2003;19(6):1603-10.

Lee PA, Chernausek SD, Hokken-Koelega AC, Czernichow P. International Small for Gestational Age Advisory Board. International small for gestational age advisory board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age. Pediatrics 2003;111:1253-61.

Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipid in on-step reaction. J Lipid Res 1986;27(1):114-20.

Lin CC, Santolaya-Forgas J. Current concepts of fetal growth restriction: part I. Causes, classification, and pathophysiology. Obstet Gynecol 1998;92(6):1044-55

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T) Methods 2001;25(4):402-8.

Livak, Kenneth J., and Thomas D. Schmittgen. "Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2< sup>− ΔΔCT</sup> Method." methods 25.4 (2001): 402-408.

Llanos A, Lin Y, Mena P, Salem N Jr, Uauy R. Infants with intrauterine growth restriction have impaired formation of docosahexaenoic acid in early neonatal life: a stable isotope study. Pediatr Res 2005;58(4):735-40.

Magnusson AL, Waterman IJ, Wennergren M, Jansson T, Powell TL. 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 2004;89(9):4607-14.

Margotto PR. Curvas de crescimento intra-uterino: uso de curvas locais. J Pediatr 2002;77(3):153-5.

Megan L Jones, Peter J Mark, and Brendan J Waddell. Maternal dietary omega-3 fatty acids and placental function Reproduction 147 (5) R143-R152.

Montenegro CAE, Rezende Filho F. Rezende Obstetrícia.12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 1200p

Moore KL, Persaud TVN. Embriologia Básica. 7. ed. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2008.

Moore KL, Persaud TVN. Atlas Colorido de Embriologia Clínica. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

Moreira Neto AR, Córdoba JCM, Peraçoli JC. Etiologia da restrição de crescimento intrauterino (RCIU). Com Ciências Saúde 2011;22(Supp 1):S21-S30.

Mullis PE, Tonella P. Regulation of fetal growth: consequences and impact of being born small. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2008;22(1):173-90.

Muthayya S, Dwarkanath P, Thomas T, Ramprakash S, Mehra R, Mhaskar A et al. The effect of fish and omega-3 LCPUFA intake on low birth weight in Indian pregnant women. Eur J Clin Nutr 2009;63(3):340-6.

Ney JG, Koury JC, Azeredo VB, Casimiro-Lopes G, Trugo NM, Torres AG. 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 2009;29(9):623-30.

Oliveira LH, Xavier CC, Lana AMA. Alterações morfológicas placentárias de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional. J. Pediatr 2002;78(5):397-402

Oliveira OR, Santana MG, Santos FS, Conceição FD, Sardinha FL, Veiga GV et al. Composition of fatty acids in the maternal and umbilical cord plasma of adolescent and adult mothers: relationship with anthropometric parameters of newborn. Lipids Health

Padilha PC, Accioly E, Veiga GV, Bessa TC, Líbera BD, Nogueira JL et al. The performance of various anthropometric assessment methods for predicting low birth weight in pregnant women. Rev Bras Saude Mater Infant 2009;9(2):197-206.

Pardi G, Cetin I, Marconi AM, Bozzetti P, Buscaglia M, Makowski EL et al. The venous drainage of the human uterus: respiratory gas studies in normal and fetal growth retarded pregnancies. Am J Obstet Gynecol 1992;166(2):699-706.

Pedreira CE, Pinto FA, Pereira SP, Costa ES. Birth weight patterns by gestational age in Brazil. An Acad Bras Cienc 2011;83(2):619-25.

Pereira DDS, Magalhães ALC, Jesús NR, Trajano AJB. Restrição de crescimento intrauterino. Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto. 2014;13(3):33-40.

Pereira DDS, Magalhães ALC, Jesús NR, Trajanodoi AJB. Restrição de crescimento intrauterino. Revista HUPE 2014;13(3):32-9.

Poisson JP, Dupuy RP, Sarda P, Descomps B, Narce M, Rieu D et al. Evidence that liver microsomes of human neonates desaturate essential fatty acids. Biochim Biophys Acta 1993;1167(2):109-13.

Pontes PV, Torres AG, Trugo NMF, Fonseca VM, Sichieri R. n-6 and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in the erythrocyte membrane of Brazilian preterm and term neonates and their mothers at delivery. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2006;74(2):117-23.

Regev RH, Lusky A, Dolfin T, Litmanovitz I, Arnon S, Reichman B et al. Excess mortality and morbidity among small-for-gestational-age premature infants: a population-based study. J Pediatr 2003;143(2):186-91.

Resnik R. Intrauterine growth restriction. Obstet Gynecol 2002;99(3):490-6.

Rodriguez A, Sarda P, Nessmann C, Boulot P, Leger CL, Descomps B. Delta6- and delta5-desaturase activities in the human fetal liver: kinetic aspects. J Lipid Res 1998b;39(9):1825-32.

Rodriguez A, Sarda P, Nessmann C, Boulot P, Poisson JP, Leger CL et al. Fatty acid desaturase activities and polyunsaturated fatty acid composition in human liver between the seventeenth and thirty-sixth gestational weeks. Am J Obstet Gynecol 1998a;179(4):1063-70.

Rosenberg A. The IUGR newborn. Semin Perinatol 2008;32(3):219-24.

Ross MG, Beall MH. Adult sequelae of intrauterine growth restriction. Semin Perinatol 2008; 32(3):213-218.

Rosso P. Nutrition and maternal-fetal exchange. Am J Clin Nutr 1981;34(Suppl 4):744-55.

Rudge MVC. Avaliação do peso dos recém-nascidos: o que é normal ou anormal. Rev Bras Ginecol Obstetr 2005;27(6):299-300.

Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochem Pharmacol 2009;77(6):937-46.

Saunders, C.; Bessa, T.C.C.A. A assistência nutricional pré-natal. In: ACCIOLY, E.; SAUNDERS, C.; LACERDA, E.M.A. Nutrição em obstetríciapediatria. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002, p.119-144.

Silva CH, Agranonik M, Silva AAM, Bettiol H, Barbieri MA, Goldani MZ. Impacto da paridade na taxa de muito baixo peso ao nascer no sul do Brasil. 29ª Semana científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. 2009. Disponível em: < http://hdl.handle.net/10183/27311> Acesso em: dia /mês/ano.

Smith NH, Ozanne SE. Intrauterine origins of metabolic disease. Rev Gyn Per Pra 2006;6(3-4):211-7.

Storch J, McDermott L. Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins. J Lipid Res 2009;50:S126-31.

Syme M. R., Paxton J. W., Keelan J. A. Drug transfer and metabolism by the human placenta. Clin. Pharmacokinet. 2004; 43, 487–51410.

Tabano S, Alvino G, Antonazzo P, Grati FR, Miozzo M, Cetin I. Placental LPL gene expression is increased in severe intrauterine growth restricted pregnancies. Pediatr Res 2006; 59(2):250-3.

Torres AG, Trugo NM. Evidence of inadequate docosahexaenoic acid status in Brazilian pregnant and lactating women. Rev Saúde Pública 2009;43(2):359-68.

Vettore MV, Gama SG, Lamarca GA, Schilithz AO, Leal MC. Housing conditions as a social determinant of low birthweigth and preterm low birthweight. Rev Saúde Pública 2010;44(6):1021-31.

Vilbergsson G, Samsioe G, Wennergren M, Karlsson K. Essential fatty acids in pregnancies complicated by intrauterine growth retardation. Int J Gynaecol Obstet 1991;36(4):277-86.

Wills J, Watson JM, Hales CN, Phillips DI. The relation of fetal growth to insulin secretion in young men. Diabet Med 1996;13(8):773-4.

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, weight-for-length, weight-for-height and body mass index. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2006.

World Health Organization - WHO. March of Dimes, Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children. Born too soon: the global action report on preterm birth. Disponível em: < www.who.int/maternal child adolescent/documents/born too soon/en/>Acesso em: 04/05/2012.

World Health Organization. Obesity. Physical Status: the use and interpretation of anthropometry. WHO Technical Report Series n 854. Geneva, Switzerland: WHO, 1995.

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 2012;7(9):e45087.

Zohdi V, Sutherland MR, Lim K, Gubhaju L, Zimanyi MA, Black MJ. Low Birth Weight due to Intrauterine Growth Restriction and/or Preterm Birth: Effects on Nephron Number and Long-Term Renal Health. Int J Nephrol 2012;2012:136942.

ANEXOS

ANEXO A

Parecer de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Maternidade Escola da UFRJ.

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

Termo de consentimento livre e esclarecido

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. Este 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: _____

DADOS PESSOAIS E SÓCIODEMOGRÁFICOS DA GESTANTE

- Qual a sua idade? _____
- Qual a data de nascimento? _____/_____/_____
- Qual o seu estado civil? ( )solteira ( )casada ( )separada ( ) viúva ( ) vive com o companheiro
- Como classifica sua cor de pele? _____
- Cor da pele de acordo com a observação do entrevistador:

  ( )branca ( )negra ( )parda ( )amarela
- Qual a sua escolaridade? _____
- Qual a sua profissão? _____
- Qual o seu tipo de moradia? ( ) Própria ( ) Alugada ( ) Outros: _____

- Tem condições de saneamento na moradia? ( ) Sim ( ) Não
- Quantas pessoas moram na casa? _____
- Qual a renda familiar total? _____ (escrever NS quando não souber informar)

AVALIAÇÃO OBSTÉTRICA E DE ASSISTÊNCIA PRÉ-NATAL

- Idade ginecológica: _____ anos
- Idade gestacional na 1ª consulta _____ (DUM/USG)
- DUM: ____/____/____
- Idade gestacional atual: _____
- Gestação de feto único? Sim ( ) Não ( )
- É a sua primeira gestação?

( ) Sim

( ) Não (Seguir para a pergunta Intercorrências maternas atual)

- Quantas gestações anteriores? _____
- Qual o intervalo das gestações? _____
- Quantos partos realizados? _____
- Qual o intervalo entre os partos? _____

Dados coletados dos prontuários:

- Histórico de gestações anteriores:

( ) abortos espontâneos ( ) abortos provocados ( ) natimortos ( ) neomortos

- Intercorrências maternas atual:

( ) Diabetes ( )Hipertensão/DHEG ( )HIV positiva ( )sem intercorrências ( )outros

- Intercorrências fetais da gestação atual:

( ) malformação ( ) anencefalia ( )baixo peso ao nascer - <2,5Kg ( ) prematuridade - <37 semanas ( ) sem intercorrências ( ) outros

- Qual o número de consultas da assistência pré-natal? _____
- Qual o número de consultas de assistência nutricional pré-natal? _____
- Com que idade gestacional teve a sua primeira consulta de assistência pré-natal?

_____

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

( ) Não

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

( ) Não

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

( ) Sim ( ) Não

DADOS ANTROPOMÉTRICOS DA GESTANTE

- Peso pré gestacional: _____Kg
- Estatura: _____ cm
- IMC pré-gestacional: _____ Kg/m^2
- Classificação do estado nutricional pré-gestacional: _____

- Peso pré-parto: _____Kg
- IMC atual: _____ Kg/m^2
- Ganho de peso gestacional total: _____Kg
- Classificação do estado nutricional atual: _____

DADOS ANTROPOMÉTRICOS DO RECÉM-NASCIDO

- Data de nascimento: ____/____/____
- Sexo: ( )Feminino ( )Masculino
- Tipo de parto: ( ) cesariana ( )normal ( )fórceps
- Idade gestacional ao nascimento: _____ semanas
- Peso da placenta: _____ g
- Peso ao nascer (até 1 hora após o nascimento): _____g
- Comprimento: _____ cm
- Perímetro cefálico: _____cm
- P/I: _____

ANEXO D

Rotinas assistenciais da maternidade escola da UFRJ - CIUR

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.

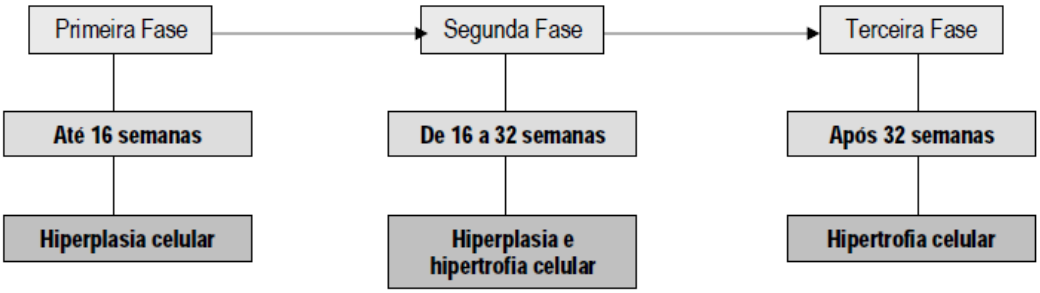

Figura 1 – Características das fases do crescimento fetal

CLASSIFICAÇÃO & ETIOLOGIA

É estabelecida conforme Figura 2.

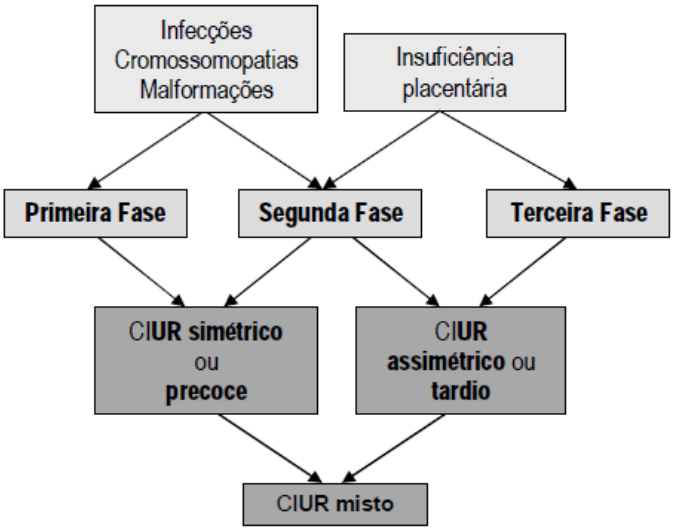

Figura 2 - Classificação do CIUR em função da sua etiologia e da época em que acomete o crescimento fetal

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.

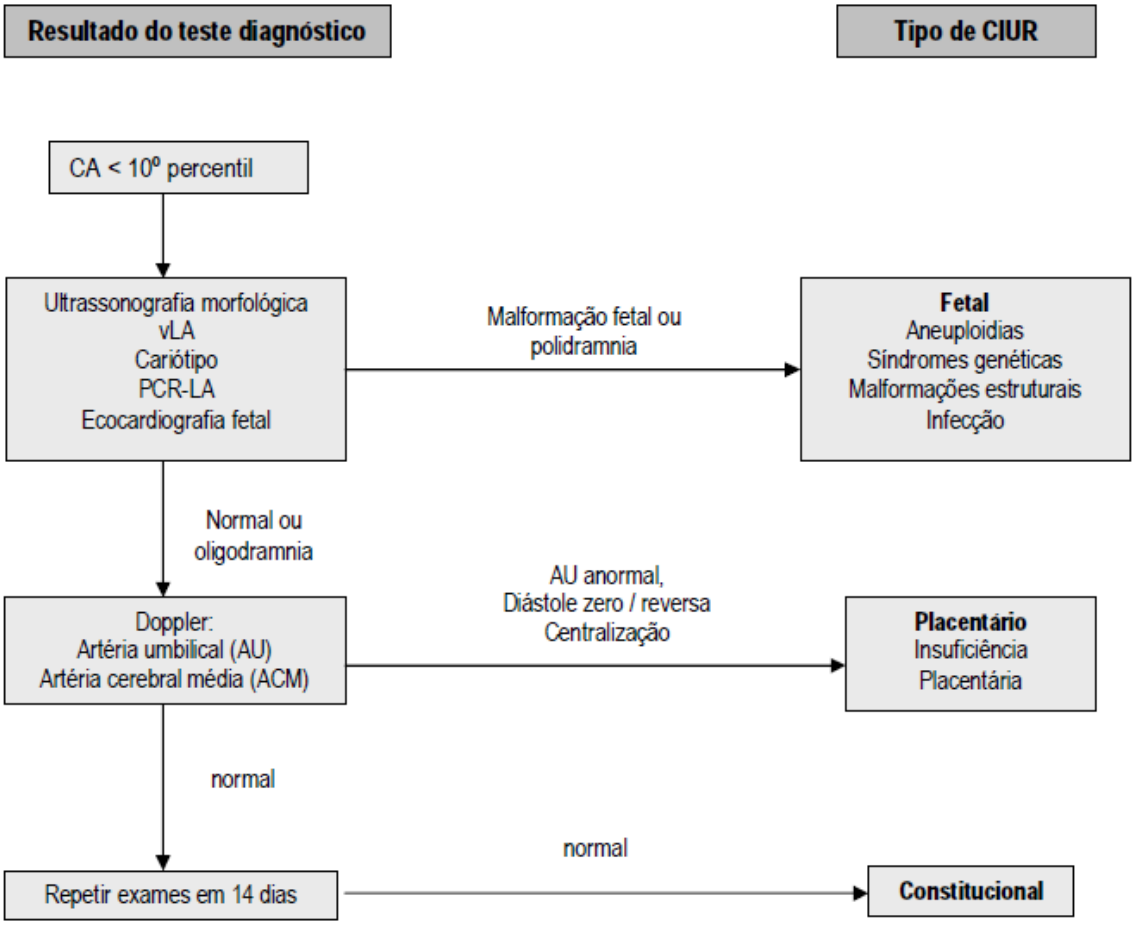

Figura 3 - Diagnóstico do CIUR (modificado de Baschat *et al.*, 2007)