**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**
**INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO**
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

# POLIMORFISMOS NO GENE FADS, PERFIL CIRCULANTE DE ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS E INGESTÃO DE LIPÍDIOS DE GESTANTES ADULTAS EUTRÓFICAS ATENDIDAS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

**BÁRBARA VITORINO ALENCAR BRAYNER**

**RIO DE JANEIRO**
**2018**

UNIVERSIDADE DO BRASIL
UFRJ

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO**

# POLIMORFISMOS NO GENE FADS, PERFIL CIRCULANTE DE ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS E INGESTÃO DE LIPÍDIOS DE GESTANTES ADULTAS EUTRÓFICAS ATENDIDAS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

Bárbara Vitorino Alencar Brayner

Dissertação de mestrado apresentada ao 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 à obtenção do título de **mestre em Nutrição Humana.**

Orientadora: Profa. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha

Rio de Janeiro

Março/2018

POLIMORFISMOS NO GENE FADS, PERFIL CIRCULANTE DE ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS E INGESTÃO DE LIPÍDIOS DE GESTANTES ADULTAS EUTRÓFICAS ATENDIDAS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

Bárbara Vitorino Alencar Brayner

DISSERTAÇÃO 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 **MESTRE EM NUTRIÇÃO HUMANA.**

Examinada por:

_____

Profa. Dra. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha
Doutora em Ciências – UNIFESP – Presidente da banca

_____

Profa. Dra. Eliane Lopes Rosado
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFRJ – Revisora

_____

Profa. Dra. Marta Citelli dos Reis
Doutora em Química Biológica – UFRJ

_____

Profa. Dra. Daniela Saes Sartorelli
Doutora em Saúde Pública – FSP/USP

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL
MARÇO 2018

Brayner, Bárbara Vitorino Alencar

Polimorfismos no gene FADS, perfil circulante ácidos graxos polinsaturados e ingestão de lipídios de gestantes adultas eutróficas atendidas em uma maternidade pública do Rio de Janeiro/ Bárbara Vitorino Alencar Brayner. - Rio de Janeiro: UFRJ/INJC, 2018.

XIV, 81 f.; 29,7cm.

Orientadora: Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2018.

Referências: p.60-67.

1. Polimorfismo. 2. Ácidos graxos. 3. Consumo alimentar. I. Sardinha, Fátima Lúcia de Carvalho, orient. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de Pós-graduação em Nutrição. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha orientadora Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha, pois sem ela essa dissertação não seria possível. Por toda sua dedicação, ensinamentos e empenho, meu muito obrigada. Saio com a certeza de que aprendi bastante ao longo do mestrado e a senhora é a responsável por isso.

Acredito que a ciência não é feita sozinha. A melhoria na qualidade de pesquisas científicas acontece, ao meu ver, quando diversas pessoas agregam, cada uma em sua especialidade, um pouco àquele trabalho. Deste modo, gostaria de agradecer a todos que contribuíram de alguma forma para essa dissertação. À Lívia Belcastro por me auxiliar desde a concepção da ideia deste projeto, até a execução de trabalhos laboratoriais mais complexos. Me espelho bastante em sua boa vontade, sua sensibilidade e seu tato em lidar com o próximo e acho que estas características compõem a excelente profissional que você se tornou. À Karla Fraga e Rafael Sales por todo auxílio nas análises de cromatografia que, com toda paciência e didática, me ensinaram o passo a passo dessa técnica e sempre me amparavam nos momentos de maior desespero. É preciso, ainda, agradecer a todas as pessoas envolvidas no projeto Gestando que trabalharam com toda dedicação no momento da coleta: Marcelly Saraiva, Camila Cortat, Daniela Mucci, Carolina Ferreira e Rafaella Marques.

Agradeço, ainda, a todos os funcionários da Maternidade Escola da UFRJ que sempre foram extremamente solícitos e às gestantes que aceitaram participar desse projeto sem as quais nossa pesquisa não seria possível.

A minha gratidão às minhas famílias Vitorino e Brayner vão muito além de toda a inspiração de sempre lutar por meus sonhos. A realização de um mestrado acadêmico não é fácil e, realizá-lo longe de todo o amparo de sua família, torna tudo ainda mais difícil. No entanto, cada mensagem de apoio, cada palavra de carinho, cada abraço apertado e, além de tudo isso, o esforço de saírem do nosso Ceará para me fazer companhia aqui no Rio nos momentos em que eu me sentia mais sozinha e desamparada, me ajudaram a seguir em frente sempre com um sorriso no rosto. Vocês são o que há de melhor em mim!

Ao meu irmão André Brayner e às minhas sobrinhas Yami e Flor por todos os momentos de descontração e doçura. Aos meus pais Inês Vitorino e Angelo Brayner, ambos professores pesquisadores, que me auxiliavam e acalmavam em cada momento de desespero, citando suas próprias frustrações passadas e me ensinando a melhor frase de todas: vai dar tudo certo. Vocês são meu exemplo de profissionais dedicados, apaixonados pelo trabalho e, ao mesmo tempo, de pais amorosos que sempre me apoiaram em cada decisão que tomei. Torcem, sofrem e vibram comigo. Obrigada por toda compreensão, paciência e amor. Todas as minhas conquistas não são somente minhas, são nossas.

E, por fim, agradeço imensamente ao meu noivo João Marcos. Foi ele quem embarcou comigo nessa jornada de morar em outro estado. Me apoiou, incentivou, me deu todo suporte necessário sempre confiando em mim, às vezes mais do que eu mesma era capaz.

Muito obrigada a todos, sou realmente muito abençoada por ter todos vocês em minha vida.

Este trabalho foi realizado na Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro, localizado no Centro de Ciências da Saúde/UFRJ, sob orientação da Profª. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha. O projeto contou com o auxílio financeiro da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

Resumo da dissertação apresentada ao PPGN/UFRJ como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de mestre em Nutrição Humana.

POLIMORFISMOS NO GENE FADS, PERFIL CIRCULANTE DE ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS E INGESTÃO DE LIPÍDIOS DE GESTANTES ADULTAS EUTRÓFICAS ATENDIDAS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

Bárbara Vitorino Alencar Brayner

Março/2018

Orientador(a): Profa. Dra. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha

RESUMO

**OBJETIVO:** Investigar relação entre polimorfismos no gene *fatty acid desaturase* (FADS), perfil circulante de ácidos graxos e ingestão lipídica em gestantes adultas eutróficas. **MÉTODOS:** Foram selecionadas 23 gestantes, com idade entre 19 e 35 anos, eutróficas, atendidas na maternidade escola da UFRJ/RJ. Amostras de sangue materno foram obtidas até a décima terceira semana gestacional e o conteúdo de ácidos graxos nos eritrócitos foi quantificado por cromatografia gasosa. Após extração do DNA materno, procedeu-se genotipagem com emprego da reação em cadeia da polimerase em tempo real com sondas TaqMan, destinada a identificar a presença de polimorfismo nos genes FADS1 SNP rs174553 e FADS2 SNP rs174575. Também foram obtidas informações referentes ao consumo alimentar, mediante aplicação de 2 recordatórios de 24 horas, analisadas pelo programa Dietbox. A análise estatística foi realizada no *software* IBM-SPSS *for Windows* versão 20.0 e o teste-t de Student, além de modelo de regressão linear foram utilizados para identificar possíveis associações. Os resultados foram considerados significativos quando $p<0,05$. **RESULTADOS:** A frequência de indivíduos homozigotos para o alelo secundário do SNP rs174575 do gene FADS2 foi de 3,2% (n=1) e para o SNP rs174553 do gene FADS1 foi de 9,7% (n=3). As mulheres com polimorfismo no gene FADS2 SNP rs174575 apresentaram maior concentração de ácido eicosapentaenoico (EPA) ($p=0,014$), porém essa relação não foi mantida ao ajustar este resultado pelo consumo de lipídios. Os demais ácidos graxos polinsaturados não revelaram associação com o polimorfismo (ácidos linoleico (LA), alfa-linolênico (ALA), araquidônico (AA), docosaexaenoico, docosapentaenoico, dihomo-gamma-linolênico, EPA/ALA, AA/LA). O SNP rs174553 não apresentou nenhuma relação com as concentrações de lipídios no sangue. **CONCLUSÃO:** Apenas o polimorfismo no gene FADS2 implicou em maiores concentrações de EPA nos eritrócitos das gestantes estudadas e o consumo de lipídios parece ser capaz de influenciar estes resultados.

Palavras-chave: Polimorfismo, gene FADS, Ácidos graxos, Consumo alimentar.

POLYMORPHISM IN THE FADS GENE, PROFILE OF CIRCULATING POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND LIPID INTAKE IN EUTROFIC ADULT PREGNANT WOMEN FROM A PUBLIC MATERNITY IN RIO DE JANEIRO COUNTY

Bárbara Vitorino Alencar Brayner

March/2018

Advisor: Profa. Dra. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha

ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To investigate the relationship between polymorphism in the fatty acid desaturase (FADS) gene, profile of circulating fatty acids and lipid dietary intake in adult eutrophic pregnant women. **METHODS:** 23 pregnant women were selected, with age between 19 and 35 years, eutrophic, which attended the School Maternity of UFRJ/RJ. Maternal blood samples were obtained until the thirteenth week of pregnancy and the quantification of fatty acids in erythrocyte were done by gas chromatography. After maternal DNA was extracted, the genotyping analysis was done by using the real time polymerase chain reaction with TaqMan probes designed to identify presence of polymorphism in the FADS1 SNP rs174553 and FADS2 SNP rs174575 genes. Information regarding dietary intake was also obtained, by applying 2 dietary food record method, further analysed by the Dietbox program. The statistical analysis was made in the *software* IBM-SPSS *for Windows* version 20.0 and Student t-test, as well as multiple linear regressions were applied to verify possible associations. The results were only deemed significant when $p<0,05$. **RESULTS:** The frequency of homozygous individuals for the secondary allele of the SNP rs174575 of the FADS2 gene was 3,2% (n=1) and for the SNP rs174553 of the FADS1 gene was 9,7% (n=3). The women with polymorphism in the FADS2 SNP rs174575 presented higher concentration of the eicosapentenoic acid (EPA) ($p=0,014$) however this association was not sustained when adjusting the results by lipids intake. The remaining polyunsaturated fatty acids did not reveal association with the polymorphism (linolenic (LA), alpha-linolenic (ALA), archidonic (AA), docosahexaenoic, docosapentaenoic, dihomo-gamma-linolenic acids, EPA/ALA, AA/LA). The SNP rs174553 did not reveal any relationship with the lipid concentration in the blood. **CONCLUSION:** Only the polymorphism in the FADS2 gene implicated in higher concentration of EPA in erythrocyte of the pregnant women studied and the lipid intake seems to have had the capacity to influence these results.

Keywords: Polymorphism, FADS gene, Fatty acids, Dietary intake.

**SUMÁRIO**


**1. INTRODUÇÃO** **16**

**2. REFERENCIAL TEÓRICO** **18**

2.1 Metabolismo dos ácidos graxos das séries n-3 e n-6 **18**

2.2 Ácidos graxos na gestação **20**

2.3 Polimorfismos **22**

2.4 Genes FADS1 e FADS2 **23**

2.5 Ingestão materna de ácidos graxos polinsaturados e polimorfismo no gene FADS **25**

**3. JUTIFICATIVA** **27**

**4. HIPÓTESE** **28**

**5. OBJETIVOS** **29**

5.1 Objetivo geral **29**

5.2 Objetivos específicos **29**

**6. MÉTODOS** **30**

6.1 Considerações éticas **30**

6.2 Delineamento do estudo e captação das participantes **30**

6.3 Critérios de elegibilidade **30**

6.4 Obtenção de informações sociodemográficas, obstétricas e da assistência pré-natal **31**

6.5 Coleta de informações destinadas à identificação do consumo de fontes alimentares de ácidos graxos **31**

6.6 Coleta das amostras de sangue **32**

6.7 Extração do DNA e genotipagem **32**

6.8 Análise de ácidos graxos no sangue materno **33**

6.9 Análise estatística **34**

**7. RESULTADOS** **35**

Artigo **36**

Introdução **37**

Métodos **38**
Resultados **40**
Discussão **50**
Referências **55**
**7. CONCLUSÃO** **59**
**REFERÊNCIAS** **60**
**ANEXOS** **68**

## LISTA DE FIGURAS


| Descrição | Página |
|---|---|
| Figura 1. Representação esquemática das etapas de dessaturação e elongação dos ácidos graxos das famílias (séries) n-3 e n-6. | **19** |
| Figura 2. Demonstração do polimorfismo de um único nucleotídeo. | **22** |

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS DO ARTIGO


| Descrição | Página |
|---|---|
| Figura 1. Fluxograma de perdas de segmento das gestantes voluntárias e tamanho amostral. | **43** |
| Tabela 1. Características sociodemográficas das gestantes. | **44** |
| Tabela 2. Média das estimativas de consumo materno. | **45** |
| Tabela 3. Frequência alélica do genótipo materno para os SNP rs174553 do gene FADS1 e rs174575 do gene FADS2. | **46** |
| Tabela 4. Composição de ácidos graxos nos eritrócitos maternos. | **47** |
| Tabela 5. Comparação entre os ácidos graxos presentes nos eritrócitos maternos de indivíduos sem (a) e com (b) polimorfismo no gene FADS2 SNP rs174575 | **48** |
| Tabela 6. Comparação entre os ácidos graxos presentes nos eritrócitos maternos de indivíduos sem (a) e com (b) polimorfismo no gene FADS1 SNP rs174553. | **49** |

## LISTA DE ANEXOS


| Descrição | Página |
|---|---|
| ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP do HUCFF/UFRJ | **69** |
| ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | **74** |
| ANEXO C - Formulário de coleta de dados | **79** |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| **AGPICL** | ácido graxo polinsaturado de cadeia longa |
| **AA** | ácido araquidônico, *arachidonic acid* |
| **EPA** | ácido eicosapentaenoico, *eicosapentaenoic acid* |
| **DHA** | ácido docosaexaenoico, *docosahexaenoic acid* |
| **AG** | ácido graxo |
| **ALA** | ácido alfa-linolênico, *alpha-linolenic acid* |
| **LA** | ácido linoleico, *linoleic acid* |
| **D5D** | delta-5-dessaturase, *delta-5-desaturase* |
| **D6D** | delta-6-dessaturase, *delta-6-desaturase* |
| **IMC** | índice de massa corporal |
| **FADS1** | ácido graxo dessaturase 1, *fatty acid desaturase 1* |
| **FADS2** | ácido graxo dessaturase 2, *fatty acid desaturase 2* |
| **SNP** | polimorfismo de um único nucleotídeo, *single nucleotide polymorphism* |
| **AGPI** | ácido graxo polinsaturado |
| **SDA** | ácido estearidônico, *stearidonic acid* |
| **DGLA** | ácido dihomo-gamma-linolenico, *dihomo-gamma-linolenic acid* |
| **DPA** | ácido docosapentaenoico, *docosapentaenoic acid* |

# 1 INTRODUÇÃO

O suprimento adequado de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (AGPICL), como ácido araquidônico (AA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosaexaenoico (DHA), é essencial para o desenvolvimento do concepto. As reservas maternas são a principal fonte destes nutrientes para o feto (MENNITTI et al., 2015; LAURITZEN et al., 2001). A gestante, por sua vez, pode obter estes ácidos graxos (AG) por meio de ingestão de alimentos ou mediante a metabolização endógena dos AG essenciais, alfa-linolênico (ALA, 18:3 n-3) e linoleico (LA, 18:2 n-6). Este processo envolve, além da etapa de elongação, dessaturação, que é catalisada pelas enzimas delta-5 e delta-6 dessaturases (D5D e D6D, respectivamente) conhecidas como limitantes na produção de AGPICL, codificadas pelos genes *fatty acid desaturase* 1 (FADS1) e *fatty acid desaturase* 2 (FADS2), respectivamente (CALDER, 2012; MERINO; MA; MUTCH, 2010).

Diversos estudos apontam para relação entre polimorfismos, caracterizados por variações gênicas, no gene FADS e alterações nas concentrações de AGPICL em diferentes tecidos do organismo. Indivíduos com alterações do tipo *single nucleotide polymorphism* (SNP) nesse gene apresentaram maiores concentrações dos substratos das enzimas D5D e D6D (ácidos graxos n-3 e n-6) e menores teores de seus produtos (AA, EPA e DHA) (BARMAN et al., 2015; RALSTON et al., 2015; SIMOPOULOS, 2010; SCHAEFFER et al., 2006).

Gestantes carreadoras do alelo polimórfico de diferentes SNP (rs174575, rs174553) do gene FADS apresentam menores concentrações circulantes de AA, assim como seus conceptos (YEATES et al., 2015; LATTKA et al., 2011; XIE; INNIS, 2008). Adicionalmente aos fatores genéticos, o consumo alimentar também influencia o conteúdo orgânico de AG durante toda a vida, incluindo o período perinatal (DEMMELMAIR; KOLETZKO, 2015).

Deste modo, investigar a relação entre o perfil circulante materno de AG essenciais e seus derivados de cadeia longa com a ingestão de lipídios e a presença de polimorfismos no gene FADS pode auxiliar na compreensão dos mecanismos moleculares capazes de intervir na disponibilidade destes nutrientes imprescindíveis para

o adequado crescimento e desenvolvimento fetal. A presente investigação assume, neste aspecto, caráter pioneiro, já que não foram encontrados outros estudos que tenham avaliado polimorfismos nesse gene em gestantes brasileiras e sua possível associação com a ingestão lipídica.

# 2 REFERENCIAL TEÓRICO

## 2.1 Metabolismo dos ácidos graxos das séries n-3 e n-6

Constituídos por uma cadeia carbônica, geralmente não ramificada, e uma única carboxila, AG são compostos classificados de acordo tanto com o comprimento da sua cadeia carbonada, quanto com o seu grau de saturação. A localização da primeira insaturação, em relação ao grupamento metil terminal, é o que define a nomenclatura n-3 ou n-6 dos ácidos graxos polinsaturados (AGPI). Representam estas famílias os ácidos graxos ALA e LA, respectivamente (SIMOPOULOS; DINICOLANTONIO, 2016; PERINI et al., 2010).

O organismo humano é capaz de sintetizar AG saturados e insaturados, a partir da lipogênese de novo, exceto ALA e LA, devido à deficiência das enzimas delta-15 e delta-12 dessaturases. Por esta razão, estes AG são reconhecidos como essenciais, cuja ingestão é vital para a espécie humana, uma vez que sua fonte é exclusivamente dietética (HAGGARTY, 2014; CALDER, 2012; SIMOPOULOS, 2010). Ácido linoleico é facilmente encontrado na natureza em sementes de diversas plantas como girassol e milho, enquanto ALA está presente, essencialmente, em óleos de origem vegetal com óleo de linhaça, soja e em vegetais folhosos verdes escuros (CALDER, 2012; MARTIN et al., 2006; CONNOR, 1999).

Tem sido reconhecida a importância da ingestão de alimentos capazes de disponibilizar proporção adequada entre estas famílias de AG (razão n-6/n-3) (CANDELA et al., 2011). O aumento significativo na produção de óleos vegetais ricos em n-6, decorrente dos avanços tecnológicos nos processos da agroindústria, resultou na elevação do consumo destes óleos e concomitante maior desequilíbrio da razão n-6/n-3, chegando a ultrapassar 16:1, nos países ocidentais (SIMOPOULOS, 2016). Neste contexto, foi sugerido que o consumo excessivo de LA, aliado a menor ingestão de alimentos fontes de ALA, pode estar relacionado à indução do estado crônico de inflamação nos indivíduos, aumentando o risco para o desenvolvimento de diferentes enfermidades como aterosclerose, obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (SIMOPOULOS; DINICOLANTONIO, 2016).

Os ácidos graxos ALA e LA podem ter suas cadeias carbonadas alongadas, quando são incorporados dois átomos de carbono entre suas respectivas porções metil terminal e a dupla ligação mais próxima, processo mediado por enzimas. De outro modo, por ação das enzimas D5D e D6D, nos carbonos 5 e 6, respectivamente, ocorre a dessaturação destes AG essenciais formando os AGPI de cadeia ainda mais longa, denominados AGPICL. A enzima delta-6 dessaturase converte LA em ácido gama linolênico (GLA, C18:3n-6) e ALA em ácido estearidônico (SDA, C18:4n-3). Ocorre ainda, conversão do ácido dihomo-gama linolênico (DGLA, C20:3n-6) em AA (C20:4n-6) e do ácido eicosatetraenoico (C20:4n-3) em EPA (C20:5n-3), por meio da ação da D5D. Assim, LA pode ser convertido em AA, enquanto ALA, em EPA, ácido docosapentaenoico (DPA, C22:5 n-3) e DHA (C22:6 n-3) (SIMOPOULOS; DINICOLANTONIO, 2016; CALDER, 2012) (Figura 1).

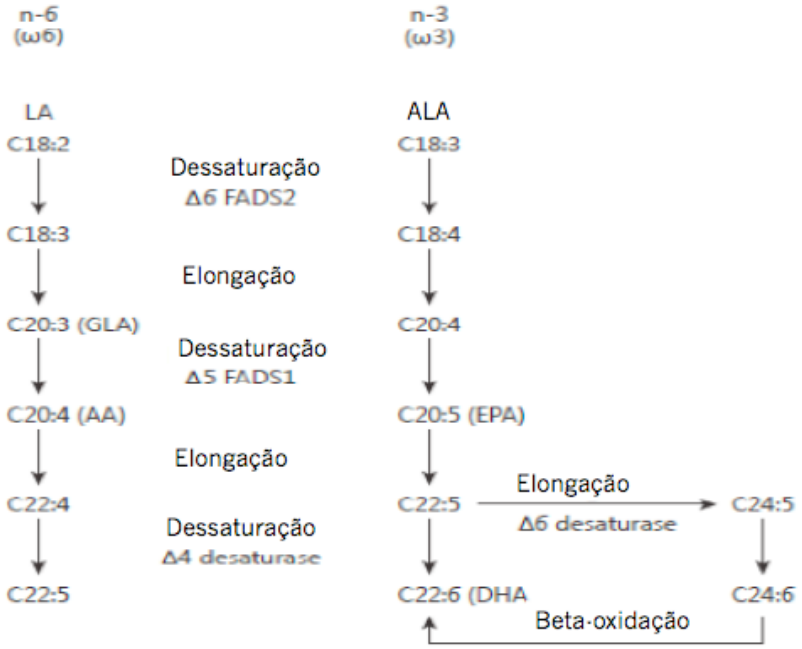


**Figura 1.** Representação esquemática das etapas de dessaturação e elongação dos ácidos graxos das famílias (séries) n-3 e n-6. As enzimas dessaturases delta 6 (Δ6) e delta (Δ5) são codificadas pelos genes FADS2 e FADS1, respectivamente. AA, ácido araquidônico; DHA, ácido docosahexaenoico; EPA, ácido eicosapentaenoico; FAD, ácido graxo dessaturase; GLA, ácido gama-linoleico.
Fonte: Adaptado de Simopoulos e DiNicolantonio (2016).

## 2.2 Ácidos graxos na gestação

O período gestacional é caracterizado por diversas alterações fisiológicas, incluindo modificações no perfil lipídico materno, fundamentais para a formação e desenvolvimento do feto. Variações nas concentrações de AG nos diferentes compartimentos orgânicos maternos durante o período gestacional já foi reportado. O estudo de Dwarkanath e colaboradores (2009) encontrou diferenças significativas de AA entre o primeiro e o segundo trimestre, bem como entre o primeiro e o terceiro trimestre. Enquanto que é possível identificar diminuição de AA, o DHA parece aumentar durante a gestação (MONIQUE et al., 1995). Essas alterações parecem normarlizar-se apenas no período pós-parto. Neste sentido, é possível identificar que os AG desempenham papel crucial. Possuem a capacidade de agirem como componentes da estrutura celular e precursores de compostos bioativos sinalizadores, além de indispensáveis, ainda, no desenvolvimento de tecidos e órgãos (ZENG; LIU; LI, 2017; JIN et al., 2016; OKOJIE et al., 2011).

Deste modo, durante a vida intrauterina e neonatal, ácidos graxos, especialmente seus derivados de cadeia longa, exercem efeitos que vão muito além do seu clássico reconhecimento como substratos energéticos (INNIS, 2007). Para o adequado desenvolvimento dos distintos sistemas orgânicos, ao longo do período fetal, são exigidas quantidades e proporções suficientes de nutrientes, incluindo de AG. Estes compostos desempenham ações moduladoras específicas. A maturação do sistema imunológico, por exemplo, exige a produção balanceada de eicosanoides, moléculas derivadas do EPA, DHA e AA, que desempenham papel chave como mediadores e reguladores da inflamação e da imunidade (ZENG; LIU; LI, 2017; ASHLEY-MARTIN et al., 2015; CALDER, 2011; HAGGARTY, 2010; INNIS, 2007).

A ação moduladora dos AGPICL sobre a expressão de genes, por meio de sua direta ligação a fatores de transcrição, confere a estas moléculas lipídicas envolvimento em etapas cruciais da neurogênese e sinaptogênese, especialmente importantes nos períodos da embriogênese e até os dois primeiros anos de vida (BALOGUN; CHEEMA, 2014; CLARKE et al., 2002). Deste modo, para o adequado desenvolvimento das funções neurais e desempenho cognitivo satisfatório, são requeridas quantidades

suficiente destes AG (LOWENSOHN; STADLER; NAZE, 2016; INNIS, 2014; JANSSEN; KILIAAN, 2014).

Regulação da expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico e adipogênese também constitui ação de AGPICL em pré-adipócitos e a razão n-6/n-3 parece regular a adipogênese perinatal, embora os mecanismos celulares e os efeitos em longo prazo ainda não são bem compreendidos (RUDOLPH et al., 2017). Ambas as famílias de AGPI têm várias ações biológicas antagônicas e influenciam a função do tecido adiposo branco (FLECKENSTEIN-ELSEN et al., 2016). Nesse contexto, já foi demonstrado que o AA é capaz de programar o potencial de diferenciação dos pré-adipócitos pela regulação da expressão gênica nos estágios iniciais da adipogênese (NIKOLOPOULOU et al., 2014), enquanto outros estudos enfatizam efeitos antiobesogênicos e antinflamatórios para os AGPICL da família n-3 (BELCHIOR et al., 2015; LUDWIG et al., 2013). Portanto, a qualidade dos AG transportados para o feto parece interferir na predisposição para o desenvolvimento de obesidade (KABARAN; BESLER, 2015; INNIS, 2011).

Por outro lado, no feto, a capacidade hepática de dessaturação dos AGPI é limitada dada a imaturidade do sistema enzimático requerido, inviabilizando suprimento suficiente de AGPICL frente a grande demanda deste período do ciclo vital. Ademais, também é restrita a capacidade da placenta em sintetizar AGPICL. Assim, a alimentação bem como as reservas adiposas maternas constituem a fonte principal destes nutrientes para o concepto, sendo transferidos através da placenta (AKBARI; MANSOURIAN; KELISHADI, 2015; DE VRIESE et al., 2002).

Frente ao papel essencial dos AGPICL para o adequado desenvolvimento fetal, o interesse em investigar os possíveis mecanismos envolvidos em sua produção é crescente. Neste sentido, diferentes estudos têm pesquisado a relação de polimorfismos que modificam o funcionamento adequado das enzimas D5D e D6D (BARMAN et al., 2015; RALSTON et al., 2015; SCHAEFFER et al., 2006).

## 2.3 Polimorfismos

A nutrigenética, ciência que estuda os genes e suas variações e o modo como estes influenciam as necessidades nutricionais de cada indivíduo, representa ferramenta essencial para desenvolvimento de estratégias alimentares personalizadas que venham a auxiliar na promoção de saúde (FENECH et al., 2011). Extensa informação científica tem apontando existir associação entre polimorfismos gênicos e diversas doenças ou particularidades nutricionais individuais. Caracterizados por variações em alelos de genes específicos, polimorfismos diferem das mutações gênicas por serem encontrados em mais de 1% da população (MORALES et al., 2016; SIMOPOULOS, 2010; MALERBA et al., 2008).

Diferentes tipos de polimorfismos são reconhecidos. Quando uma ou mais bases nitrogenadas estão ausentes, é denominado "polimorfismo de deleção". Havendo adição de uma ou mais bases nitrogenadas, é referido "polimorfismo de inserção". Na situação de troca ou substituição de uma ou mais bases nitrogenadas, "polimorfismo de substituição". Neste último caso, quando ocorre substituição de um único nucleotídeo, se configura alterações do tipo *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) (Figura 2) (MOTT; MOHR, 2015).

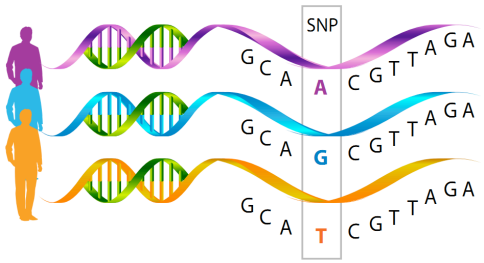


**Figura 2.** Representação esquemática do polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP, *single nucleotide polymorphism*). A: Adenina; G: Guanina; T: Timina; C: Citosina. Fonte: What is DNA. Dna encyclopedia.
Disponível em: <https://www.whatisdna.net/wiki/single-nucleotide-polymorphisms/> Acesso em: 15 Out. 2017.

As análises para identificação de polimorfismos utilizam a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR, *Polymerase Chain Reaction*), que pode ser convencional ou em tempo real. O método convencional requer mais tempo, apresenta dificuldades na padronização e baixa sensibilidade. Deste modo, estudos recentes vêm aplicando a

técnica em tempo real, por apresentar maior sensibilidade, não possuir risco de contaminação por brometo e ser mais rápida. [1]

## 2.4 Genes FADS1 e FADS2

Os genes *Fatty Acid Desaturase* 1 e 2 (FADS1 e FADS2) codificam as enzimas D5D e D6D, respectivamente, conhecidas como limitantes na produção de AGPICL (LATTKA et al*.,* 2010). A maior expressão dessas enzimas ocorre no fígado e, em menores proporções, no cérebro, coração e pulmão. Mudanças na sua atividade podem levar a alterações na quantidade e no perfil tecidual de AG, influenciando diversos processos biológicos regulados por estes compostos lipídicos (RALSTON et al., 2015).

Os genes FADS1 e FADS2 estão orientados na direção cabeça-cabeça, unidos por suas porções terminais, em um aglomerado de genes, juntamente com um terceiro *fatty acid desaturase* (FADS3) no cromossomo 11 (11q12-q13). Enquanto a função das enzimas do FADS1 e FADS2 são conhecidas, a do produto do gene FADS 3 ainda não está definida (ZHANG; KOTHAPALLI; BRENNA, 2016; LATTKA et al., 2010).

Conhecidos como extremamente polimórficos, os genes FADS1 e FADS2 apresentam mais de quatro mil variantes, especialmente SNP, dos quais, em média, 200 estão relacionados a alterações da estrutura proteica das enzimas D5D e D6D (MINIHANE, 2016) e associados à diminuição da conversão de LA e ALA em seus derivados de cadeia longa (SCHOLTZ et al*.,* 2015; SIMOPOULOS, 2010). As alterações genéticas explicam, especialmente, variações no conteúdo tecidual de AA, enquanto que para o DHA, o efeito do polimorfismo é menos evidente, indicando que o conteúdo orgânico deste AGPICL da família n-3 é mais influenciado por seu consumo alimentar (LATTKA et al., 2010).

A frequência de carreadores do alelo secundário, dos genes FADS varia consideravelmente entre os continentes. A ocorrência entre hispânicos e norte-americanos alcança 97%. Entre indivíduos asiáticos e europeus, atinge entre 20% e 50% e, em descendentes de africanos, a frequência é quase nula, próxima a 1% (AMEUR et al., 2012).

---

[1] Life Technologies. Real time PCR handbook. Disponível em: < https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr/qpcr-education/real-time-pcr-handbook.html > Acesso em: 22 Jun. 2017

Correspondência entre alguns SNP do gene FADS com variações nos teores de AG em distintos compartimentos orgânicos já foi descrita. Schaeffer e cols. (2006) investigaram a relação de 18 SNP dos genes FADS1 e FADS2 com a composição e os teores de AG plasmáticos de 727 indivíduos. Portadores do alelo secundário de 11 dentre os 18 SNP estudados apresentaram aumento no substrato e diminuição do produto das dessaturases. A variação observada foi especialmente elevada para o AA. Posteriormente, foi pesquisada relação entre polimorfismo no gene FADS e variações no conteúdo de AG na membrana de eritrócitos (MALERBA et al*.,* 2008), no tecido adiposo (BAYLIN et al*.,* 2007) e no leite materno (LATTKA et al*.,* 2011; XIE; INNIS, 2008). Os resultados foram positivos nos três compartimentos analisados e as associações também foram mais significativas para os teores de AA e, para o leite materno, também foram encontrados resultados importantes nas variações de EPA.

Em gestantes, polimorfismos nos genes FADS1 e FADS2 têm sido relacionados com diminuição de AA e EPA no sangue, além destes AGPICL também estarem reduzidos no sangue do recém-nascido. Essas variações no gene FADS materno foram associadas, em alguns estudos, ao menor desenvolvimento cognitivo e escores de coeficiente de inteligência mais reduzidos nas crianças, possivelmente, em razão da diminuição na disponibilidade dos derivados lipídicos de cadeia longa em etapas cruciais do desenvolvimento fetal (STEER et al., 2013; MORALES et al., 2011; XIE; INNIS, 2008).

É reconhecido, entretanto, que a interação entre o conteúdo de AGPICL nos diferentes compartimentos orgânicos e estas variantes genéticas representa temática complexa. É possível que a própria ingestão de AG constitua fator capaz de regular a expressão dos genes FADS (SIMOPOULOS, 2010). Adicionalmente, não existe consenso acerca de quais SNP dos genes FADS1 e FADS2 estão relacionados à alterações de AG (MINIHANE, 2016). Xie e Innis (2008) investigaram a relação dos SNP rs174553, rs99780, rs174575 e rs174583 do gene FADS com as concentrações de AG no sangue e leite materno, encontrando valores aumentados dos AGPI e diminuídos de seus produtos AGPICL. Os autores encontraram associações positivas para os SNP rs174553 e rs174575. Outros três estudos, que avaliaram polimorfismos no gene FADS

em gestantes, encontraram resultados significativos para os SNP rs174575 e rs174553 (SCHOLTZ et al., 2015; YEATES et al., 2015; STEER et al., 2013).

As evidências acerca dos efeitos do polimorfismo no gene FADS sobre as concentrações de AGPICL nos diferentes tecidos humanos são crescentes (BARMAN et al., 2015; RALSTON et al., 2015; SIMOPOULOS, 2010). Deste modo, identificar as variáveis que podem mitigar ou agravar alterações lipídicas desta natureza, causadas pelas variantes desse gene, pode representar forma de entender como modular o polimorfismo. Nesse contexto, a alimentação poderia constituir fator ambiental capaz de minimizar as diferenças nas concentrações de AGPICL entre carreadores de alelo primário e secundário (MATHIAS; PANI; CHILTON, 2014).

## 2.5 Ingestão materna de ácidos graxos polinsaturados e polimorfismo do gene FADS

A adequada alimentação da gestante constitui um dos fatores essenciais para o estabelecimento de ambiente intrauterino associado aos desfechos materno-fetais positivos. Neste contexto, já foi descrito que o consumo inadequado de AG essenciais bem como de seus derivados de cadeia longa, durante a gestação, relacionam-se com maior susceptibilidade do feto para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta (MENNITTI et al., 2015).

O conteúdo circulante de AGPICL guarda relação tanto com o metabolismo dos AG essenciais, quanto com seu próprio consumo alimentar (SIMOPOULOS, 2010). Conforme já salientado, dada a imaturidade do sistema enzimático hepático do feto e a limitada capacidade da placenta em sintetizar AGPICL, o suprimento fetal destes nutrientes é proveniente da alimentação e das reservas adiposas maternas. Deste modo, inadequação nutricional, durante a gestação, pode resultar em menor disponibilidade destes compostos para o desenvolvimento do concepto, já tendo sido descrita maior vulnerabilidade para a deficiência destes nutrientes durante o período gestacional (SILVA; JÚNIOR;SOARES, 2007).

Considerando a função essencial das enzimas D5D e D6D nas vias metabólicas de síntese endógena dos AGPICL, a investigação dos efeitos dos polimorfismos nos genes FADS1 e FADS2 sobre a produção destes compostos tem sido ampliada

(MINIHANE, 2016; BARMAN et al., 2015; RALSTON et al., 2015). Adicionalmente, o potencial modulador da ação destes genes, decorrente do suprimento dietético de AGPICL também vem sendo objeto de estudo. Neste sentido, já foi sugerido que a suplementação com AGPICL n-3 pode induzir regulação nos genes FADS, sendo capaz de modificar a expressão deste gene (HOILE et al., 2014). Ralston e cols. (2015) mostraram expressão reduzida de FADS1 e FADS2 em adipócitos tratados com EPA e AA, assim como das dessaturases D5D e D6D. Adicionalmente, em modelo experimental, foi demonstrado que animais que não expressam o gene FADS2 podem desenvolver desregulação da lipogênese bem como outras complicações, relacionadas à obesidade, dependendo do suprimento dietético de AG (STOFFEL et al., 2014). Outros investigadores têm sugerido que o gene FADS influencia o conteúdo orgânico de AGPICL entre indivíduos cujo consumo de peixes é reduzido, que seriam mais dependentes da produção endógena de AGPICL (SCHOLTZ et al., 2015; YEATES et al., 2015). Assim, essa modulação poderia explicar porque diferentes populações, que apresentam frequências similares nas variantes SNP dos genes FADS, mas têm padrão de ingestão dietética distinto, podem apresentar distribuição tecidual de AG bem diferente (YEATES et al., 2015; MATHIAS; PANI; CHILTON, 2014).

Apesar de o polimorfismo no gene FADS estar relacionado à diminuição dos produtos das dessaturases em diversos SNP, o aumento da ingestão de EPA, AA e DHA parece compensar as diferenças entre indivíduos carreadores do alelo secundário e primário (MELDRUM et al., 2017; GILLINGHAM et al., 2013; CORMIER et al., 2012). Desta forma, avaliar o consumo de AGPI é essencial para entender o poder da influência dessas alterações gênicas sob as concentrações desses produtos no organismo (YEATES et al., 2015; CORMIER et al., 2012).

Assim, a disponibilidade de AGPI poderia influenciar ou ser influenciada pela presença dessas variantes dos genes FADS e, no contexto da gestação, estas questões adquirem relevância ainda maior, considerando a importância do suprimento adequado destes compostos lipídicos para o adequado crescimento e desenvolvimento do concepto, conforme salientado anteriormente.

## 3 JUSTIFICATIVA

Evidências apontam para o reconhecimento de que a composição de AG dos tecidos orgânicos depende, tanto da ingestão dietética, quanto das vias metabólicas envolvidas no metabolismo deste nutriente que, por sua vez, podem ser controladas por polimorfismos genéticos. Deste modo, dada a importância do suprimento fetal de AG e de seus derivados de cadeia longa, cuja origem é fundamentalmente proveniente do conteúdo circulante materno, justifica-se a investigação de polimorfismos no gene FADS e sua relação com o perfil de AG no sangue de gestantes.

Não foram encontrados estudos anteriores que tenham analisado estas variáveis em mulheres brasileiras durante a gestação, de modo que se espera que os resultados da presente investigação pretenderam contribuir para elucidar mecanismos moleculares que, futuramente, possam fortalecer as recomendações de maior consumo de AGPICL, contribuindo, assim, para a promoção do adequado desenvolvimento fetal, assim como da saúde do concepto em longo prazo.

## 4 HIPÓTESE

Gestantes carreadoras do SNP rs174575 e/ou rs174553 do gene FADS apresentam concentrações eritrocitárias de AA, EPA e DHA diminuídas. Adicionalmente, maior ingestão dietética de AGPI é capaz de reduzir diferenças nas concentrações dos AGPICL entre portadores do alelo secundário e primário.

# 5 OBJETIVOS

## 5.1 Objetivo geral

Investigar relação entre polimorfismos no gene FADS, perfil circulante de ácidos graxos e consumo alimentar de lipídios em gestantes adultas eutróficas.

## 5.2 Objetivos específicos

- Estimar o consumo alimentar de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados;
- Identificar polimorfismos no gene FADS;
- Determinar as concentrações eritrocitárias dos ácidos graxos essenciais (LA e ALA) e de seus respectivos derivados de cadeia longa (AA, EPA, DGLA, DPA, DHA);
- Estimar a atividade das enzimas delta 5 dessaturase (EPA/ALA) e delta 6 dessaturase (AA/LA);
- Testar associação entre polimorfismos no gene FADS, concentrações sanguíneas de ácidos graxos essenciais e AGPICL e a ingestão de lipídios.

# 6 MÉTODOS

## 6.1 Considerações éticas

O presente estudo constitui subprojeto de uma investigação maior intitulada "Obesidade materna e biomarcadores moleculares e inflamatórios placentários: estudos de intervenção com óleo de peixe e probióticos", cadastrado no Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 34611513.0.0000.5257), com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 19 de outubro de 2014 (ANEXO A). Todos os procedimentos dessa pesquisa foram planejados respeitando-se os aspectos éticos, inclusive os princípios de beneficência e não maleficência previstos na resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2017).

## 6.2 Delineamento do estudo e captação das participantes

Trata-se de um estudo analítico transversal, com captação de voluntárias e coleta de amostras biológicas na Maternidade Escola da UFRJ, que atende mulheres cujas características sociodemográficas se assemelham às das gestantes que utilizam outras unidades de saúde do Município do Rio de Janeiro (SANTOS et al., 2012). A captação das gestantes voluntárias ocorreu de forma contínua, entre março de 2015 e abril de 2016, caracterizando amostra de conveniência. Após esclarecimentos acerca dos objetivos e procedimentos do estudo, foi solicitada autorização, por escrito, da participação da gestante, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B).

## 6.3 Critérios de elegibilidade

Foram elegíveis gestantes de feto único, até a décima terceira semana gestacional (de acordo com a primeira ultrassonografia), adultas e com índice de massa corporal (IMC) pré-gestacional entre 18,5 e 24,9 Kg/m² (calculado de acordo com a massa corporal relatada e estatura verificada por enfermeiras da Maternidade Escola, em estadiômetro Filizola®, com variação de 0,5 cm), categorizadas eutróficas (WHO, 2002), sem diagnóstico prévio, ou em curso, de diabetes mellitus, cardiopatias, hipertensão

arterial sistêmica, insuficiência renal, distúrbios tireoidianos e/ou infecciosos, não tabagistas, que não consumiam bebida alcoólica ou faziam uso de suplemento contendo AG.

### 6.4 Obtenção de informações sociodemográficas, obstétricas e da assistência pré-natal

Informações relativas às variáveis que foram utilizadas para caracterização das condições sociodemográficas das gestantes investigadas foram obtidas por meio de entrevista e incluíram: idade materna, definida em anos completos no dia da entrevista; renda familiar, definida em número de salários mínimos vigentes no município do RJ; número de pessoas residentes no domicílio; situação marital (solteira/união estável ou casada); escolaridade (ensino fundamental, médio, superior); ocupação (dona de casa/trabalha fora/estudante) e cor da pele por autoclassificação (branca, negra, parda, indígena ou amarela). Adicionalmente, por meio de consulta aos prontuários das gestantes, e/ou entrevista também foram obtidas informações obstétricas e da assistência pré-natal, incluindo, medicamentos e/ou suplementos nutricionais usados na gestação, doença obstétrica atual, uso de tabaco e drogas. Todas as informações coletadas foram registradas em formulário previamente elaborado e testado (ANEXO C).

### 6.5 Coleta de informações destinadas à identificação do consumo de fontes alimentares de ácidos graxos

Informações referentes ao consumo de fontes alimentares de AG foram obtidas mediante a aplicação de dois recordatórios de 24 horas (R24h) por nutricionistas e/ou estudantes do curso de nutrição (CASTELL et al., 2015). O primeiro, por ocasião da inserção da gestante no projeto, e o segundo, por meio de contato telefônico, na mesma semana em que o primeiro foi realizado. Ambos referentes a dias típicos de alimentação da gestante

As informações coletadas foram analisadas por meio do programa Dietbox, inserindo os alimentos ou preparações na tabela que fornecia informações sobre a composição centesimal de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011). Os alimentos que não constavam no programa foram incluídos utilizando

a informação nutricional contida no rótulo do produto ou, na ausência de rótulo, foi utilizada a tabela da *United States Department of Agriculture* (USDA, 2015).

### 6.6 Coleta das amostras de sangue

As gestantes captadas compareciam à Maternidade Escola para realização dos exames de sangue previstos na rotina de assistência pré-natal desta unidade de saúde, em jejum prévio de 8 horas. Especificamente para essa dissertação, somente foi analisado o sangue coletado até a décima terceira semana gestacional. Todas as coletas foram realizadas por profissional habilitado, sendo recolhidos 4 (quatro) mL adicionais de sangue, em tubo vacutainer, previamente identificado, contendo 1g de Na2-EDTA/L, especialmente para o projeto. Em seguida, no laboratório de análises da própria Maternidade, a equipe de alunos pesquisadores do projeto prosseguia com o processamento das amostras coletadas. Assim, foram separados, em criotubos, 500 µL de sangue total e acondicionados em recipiente contendo nitrogênio líquido. Para separação do plasma, o restante das amostras foi submetido à centrifugação (3.500 rpm por 15 minutos). O sobrenadante (plasma) foi aliquotado em tubos eppendorfs, e a massa acumulada no vacutainer (hemácias), submetida à lavagem com solução salina, sendo recolhido volume correspondente a 1 mL, em tubo eppendorf adicional, contendo BHT (*butylated hydroxytoluene*, hidroxitolueno butilado) como antioxidante. As alíquotas correspondentes ao plasma e hemácias foram mantidas em isopor com gelo e transportadas juntamente com os criotubos em nitrogênio líquido até o Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro da UFRJ, permanecendo armazenadas em freezer -80°C, até a realização das análises correspondentes.

### 6.7 Extração do DNA e genotipagem

As amostras de sangue total foram utilizadas para a extração do DNA materno, por meio da aplicação de kit comercial (*Qiagen DNA Blood Mini Kit*), com processamento manual, por meio de centrifugação, fornecendo 4 a 12 µg de DNA no eluído final. Para genotipagem empregou-se a técnica da reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction,* PCR), em tempo real, utilizando-se o kit TaqMan

(Termofisher®). Para cada reação foram utilizados 5 µL do MasterMix, 0,25 µL da Sonda TaqMan específica para o SNP rs174553 do gene FADS1 e outra para o SNP rs174575 do gene FADS2, 3,75 µL de água MiliQ e 1 µL do DNA extraído previamente. Todas as reações foram realizadas em triplicata. As misturas foram individualmente dispostas na placa que teve seus poços previamente identificados e, posteriormente vedados, para inserção no equipamento Step One (Applied Biosystems ®) e identificação da presença de polimorfismos.

### 6.8 Análise de ácidos graxos no sangue materno

Para quantificação dos AG presentes nos lipídios totais do sangue materno as amostras de eritrócitos maternos, obtidas conforme descrição anterior, foram submetidas à metilação direta alcalina, realizada de acordo com o método adaptado *American Oil Chemists' Society* Ce 2b-11 (AOCS, 2011), que preconiza a adição de 5 mg de padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich). Cromatografia gasosa foi empregada para a análise dos teores de AG destas amostras metiladas, utilizando equipamento Agilent Technologies 7890A CG System, equipado com detector de ionização de chama, acoplado ao programa EZChrom Elite CDS (Agilent Technologies, Inc., C.A., U.S.A.). As soluções de ésteres metílicos foram inseridas no equipamento por meio de injetor automático, no volume de 1 µL/amostra, com taxa de divisão (split) 1:2. Os ésteres metílicos foram separados em coluna capilar de sílica fundida SP-2560 de bis-cianopropil polisiloxano (Supelco Inc., PA, USA) com 100 m de comprimento x 0,25 µm x 0,2 µm de diâmetro interno, com programação das temperaturas de corrida e do fluxo de gases (hidrogênio, gás de arraste; nitrogênio, gás auxiliar; hidrogênio e ar sintético da chama - Linde Gases, RJ, BR), cuja programação de temperatura inicial foi estabelecida em 100 °C, alcançando, na rampa 1, temperatura de 140 °C com taxa de aumento de 3 °C/minuto. Na rampa 2, a taxa de aumento da temperatura foi de 0,5 °C/minuto até alcançar 170 °C. Em seguida, na rampa 3, 3,2 °C/ minuto até 220 °C, permanecendo nesta temperatura por 35 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 °C. Os fluxos de gases (Linde Gases, RJ, BR) foram de 0,75 mL/minuto para o gás de arraste (hidrogênio); 25 mL/ minuto para o gás auxiliar (nitrogênio); 30 mL/minuto e 400 mL/minuto para o

hidrogênio e para o ar sintético da chama, respectivamente. Os AG metilados foram identificados com base na comparação com o tempo de retenção relativo dos picos do padrão (Nu-Chek Prep. Inc., mistura de ésteres metílicos 463), e a quantificação de cada AG foi realizada utilizando-se o padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich) como referência.

### 6.9 Análise estatística

Os teores de AG nas amostras de sangue materno assim como os dados referentes ao consumo de lipídios foram expressos como média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo, enquanto os polimorfismos dos genes como frequências absolutas e relativas. Após emprego do teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi reconhecida a natureza paramétrica da distribuição dos dados avaliados. Teste t-Student foi utilizado para comparar o conteúdo materno de AG, segundo a presença de polimorfismo em cada gene (KIRKWOOD; STERNE, 2006). As comparações também foram realizadas ajustando pelos valores de consumo de AG saturados, monoinsaturados e polinsaturados, com uso de modelos lineares gerais (NETER et al., 1996). As análises foram processadas no *software* IBM-SPSS *for Windows* versão 20.0 e as diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

# 7 RESULTADOS

Os resultados da presente dissertação foram organizados no formato de manuscrito a ser submetido à revista indexada.

POLYMORPHISM OF SNP rs174575 IN THE FADS GENE IS ASSOCIATED WITH EICOSAPENTANOIC ACID CONCENTRATION IN ERYTHROCYTE MEMBRANE IN ADULT PREGNANT WOMEN FROM RIO DE JANEIRO


**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** To investigate the association between polymorphism in the fatty acid desaturase (FADS) gene, profile of circulating fatty acids and lipid dietary intake in adult eutrophic pregnant women. **METHODS:** 23 pregnant women were selected, with age between 19 and 35 years, eutrophic, which attended the School Maternity of UFRJ/RJ. Maternal blood samples were obtained until the thirteenth week of pregnancy and the quantification of fatty acids in erythrocyte were done by gas chromatography. After maternal DNA was extracted, the genotyping analysis was done by using the real time polymerase chain reaction with TaqMan probes designed to identify presence of polymorphism in the FADS1 SNP rs174553 and FADS2 SNP rs174575 genes. Information regarding dietary intake was also obtained, by applying 2 dietary food record method, further analysed by the Dietbox program. The statistical analysis was made in the *software* IBM-SPSS *for Windows* version 20.0, student t-test as well as multiple linear regressions were applied to verify possible associations. The results were only deemed significant when $p<0,05$. **RESULTS:** The frequency of homozygous individuals for the secondary allele of the SNP rs174575 of the FADS2 gene was 3,2% (n=1) and for the SNP rs174553 of the FADS1 gene was 9,7% (n=3). The women with polymorphism in the FADS2 SNP rs174575 presented higher concentration of the eicosapentenoic acid (EPA) ($p=0,014$) however this association was not sustained when adjusting the results by lipids intake. The remaining polyunsaturated fatty acids did not reveal association with the polymorphism (linolenic (LA), alpha-linolenic (ALA), archidonic (AA), docosahexaenoic, docosapentaenoic, dihomo-gamma-linolenic acids, EPA/ALA, AA/LA). The SNP rs174553 did not reveal any association with the lipid concentration in the blood. **CONCLUSION:** Only the polymorphism in the FADS2 gene implicated in higher concentration of EPA in erythrocyte of the pregnant women studied and the lipid intake seems to have had the capacity to influence these results.



**Keywords:** Polymorphism, FADS gene, Fatty acids, Dietary intake.

## 1. Introdução

Adequado desenvolvimento fetal constitui processo dependente de diferentes fatores, incluindo o suprimento suficiente de lipídios, em especial de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (AGPICL) das séries n-3 e n-6, como os ácidos eicosapentaenoico (EPA), docosaexaenoico (DHA) e ácido araquidônico (AA), respectivamente, reconhecidos fundamentais para a eficiente maturação do sistema neurológico, da retina e do sistema imune da criança [1-3]. As reservas lipídicas maternas, especialmente acumuladas nos dois primeiros terços da gestação, representam a principal fonte destes nutrientes para o feto [4]. Adicionalmente, a ingestão destes ácidos graxos (AG) bem como a metabolização endógena de seus precursores, os AG essenciais, alfa-linolenico (ALA, 18:3 n-3) e linoleico (LA, 18:2 n-6) também constituem formas por meio das quais a gestante pode obter e transferir estes AG ao feto [5].

Diversas etapas de elongação, mediante a adição de carbonos, e dessaturação, a partir dos precursores LA e ALA, são necessárias para formação dos AGPICL. A dessaturação é mediada pelas enzimas delta-5-dessaturase (D5D) e delta-6-dessaturase (D6D), codificadas pelos genes *fatty acid desaturase 1* (FADS1) e *fatty acid desaturase 2* (FADS2), respectivamente [6].

Diferentes estudos têm investigado as consequências de variações nos genes FADS1 e FADS2, especialmente do tipo *single nucleotide polymorphism* (SNP) [7-9]. Os principais achados em indivíduos carreadores do alelo secundário são diminuição nas concentrações dos produtos das enzimas D5D e D6D, como AA e EPA em plasma [10,11], eritrócito [12] e leite materno [13,14] e, consequentemente, aumento dos substratos LA e ALA. Em gestantes, essa variante gênica acarretou na diminuição de AGPICL não somente em seus próprios tecidos, como no de seus conceptos [15].

Neste contexto, considerando a função essencial desses lipídios durante a gestação para desfechos positivos, tanto neonatais, como em mais longo prazo, nesse estudo se buscou avaliar possível correlação entre o polimorfismo nos genes FADS1 e FADS2 e concentrações de AGPI e AGPICL no eritrócito de gestantes. Adicionalmente, também foi investigado se a qualidade dos lipídios consumidos pela gestante foi capaz de mitigar as consequências metabólicas desta variante gênica.

A realização deste estudo, ainda que com uma pequena subamostra da população brasileira, não tendo sido identificados outros trabalhos envolvendo este público-alvo, sinaliza perspectiva promissora para ampliação de investigações de natureza semelhante, considerando que as variações étnicas são importantes fatores a serem avaliados nas pesquisas envolvendo genética.

## 2. Métodos

Sujeitos da pesquisa

O presente estudo de desenho analítico transversal envolveu uma amostra de conveniência de gestantes adultas recrutadas entre março de 2015 e abril de 2016. Todas as voluntárias recebiam atendimento na Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro, instituição pública localizada no Rio de janeiro, Brasil. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição (número 34611513.0.0000.5257), de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde [16] e cada participante assinou termo de consentimento antes de ser incluída no estudo.

Foram elegíveis gestantes eutróficas [17], de feto único, captadas até a décima terceira semana gestacional, sem diagnóstico clínico prévio, ou em curso, de doenças crônicas não transmissíveis, não tabagistas, não consumidoras de bebida alcoólica ou usuárias de suplemento contendo AG. Informações relativas às condições sociodemográficas das mulheres investigadas foram obtidas por meio de entrevistas estruturadas aplicadas por profissionais treinados. Adicionalmente, por meio de consulta aos prontuários das gestantes, e/ou entrevista, foram obtidas informações obstétricas e da assistência pré-natal, incluindo suplementos nutricionais usados na gestação, doença obstétrica atual, uso de tabaco e drogas.

Estimativa da ingestão de lipídios

Informações relativas à ingestão lipídica foram obtidas mediante a aplicação de dois recordatórios de 24 horas (R24h), referentes a dias típicos de alimentação da gestante [18]. O primeiro R24h foi presencial, enquanto o segundo, realizado na mesma

semana, foi obtido por meio de contato telefônico. Ambos os inquéritos foram aplicados por profissionais nutricionistas ou estudantes do curso de nutrição. Os dados foram analisados utilizando-se o programa Dietbox utilizando a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos [19]. Para alimentos não listados no programa foram utilizadas as informações nutricionais descritas no rótulo do produto ou, na ausência de rótulo, utilizou-se a tabela de composição química da *United States Deparment of Agriculture* [20].

Coleta e processamento das amostras de sangue

Amostras de sangue (4 mL) foram coletadas por profissional habilitado, em tubos vacutainer, previamente identificados, contendo 1g de Na2-EDTA/L, no próprio dia da captação das voluntárias, ocasião em que compareciam à maternidade em jejum prévio de 8 horas. Foram reservados 500 µL de sangue total e para o restante das amostras o plasma foi separado dos eritrócitos por centrifugação a 3.000 rpm / 10 min. As hemácias foram submetidas à lavagem com solução salina, sendo recolhido volume correspondente a 1 mL, em tubo eppendorf, contendo antioxidante BHT. As alíquotas correspondentes ao plasma, hemácias e sangue total permaneceram armazenadas em freezer -80 °C, até a realização das análises correspondentes.

Extração do DNA e genotipagem

A extração do DNA materno foi realizada mediante emprego de kit comercial (*Qiagen DNA Blood Mini Kit),* nas amostras de sangue total. Para genotipagem utilizou-se a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), em tempo real, por meio do kit TaqMan (Termofisher®). Para cada reação foram utilizados 5 µL do MasterMix, 0,25 µL da Sonda TaqMan específica para o SNP rs174553 do gene FADS1 e outra para o SNP rs174575 do gene FADS2, 3,75 µL de água MiliQ e 1 µL do DNA extraído previamente. Todas as reações foram realizadas em triplicata. As misturas foram individualmente dispostas na placa que teve seus poços previamente identificados e, posteriormente vedados, para inserção no equipamento Step One (Applied Biosystems ®) e identificação da presença de polimorfismos.

Análise de ácidos graxos

As amostras de eritrócitos maternos foram submetidas à metilação direta alcalina, de acordo com o método adaptado *American Oil Chemists' Society* Ce 2b-11 [21] que preconiza a adição de 5 mg de padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich). Os ésteres metílicos de AG foram separados e quantificados em cromatógrafo Agilent Technologies 7890A CG System, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar (biscianopropil-polissiloxano, 100 m 0,25 mm 0,20 m; Supelco, Bellefonte, PA, EUA), utilizando o software EZChrom Elite CDS (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA). As condições cromatográficas foram semelhantes às descritas por de Fonseca e colaboradores [22]. Os AG metilados foram identificados com base na comparação com o tempo de retenção relativo dos picos do padrão (GLC 463 Reference Standard, Nu-Check Prep. Inc., Elysian, MN, EUA) e a quantificação de cada AG foi realizada utilizando-se o padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich) como referência.

Análise estatística

Os teores de AG nas amostras de sangue materno assim como os dados referentes ao consumo de lipídios foram expressos como média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo, enquanto os polimorfismos dos genes como frequências absolutas e relativas. O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi empregado para testar a normalidade dos valores avaliados e a suposição de normalidade foi aceita Teste t-Student foi utilizado para comparar o conteúdo materno de AG, segundo a presença de polimorfismo em cada gene. As comparações foram também realizadas ajustando pelos valores de consumo de AG saturados, monoinsaturados e polinsaturados, com uso de modelos lineares gerais. As análises foram realizadas no *software* IBM-SPSS *for Windows* versão 20.0 e o nível de significância fixado em 5%.

## 3. Resultados

Quarenta (40) gestantes foram consideradas elegíveis, tendo ocorrido, entretanto, perdas de segmento. Seis participantes solicitaram que seus dados não fossem utilizados,

duas não autorizaram a coleta de sangue e outra voluntária foi diagnosticada com hipotireoidismo. Deste modo, foram obtidas amostras de sangue de trinta e uma (31) gestantes para a análise de presença de polimorfismo. Ressalta-se que, no entanto, por razões técnicas, somente foi possível quantificar o conteúdo de AG eritrocitário de vinte e três (23) mulheres. Por esta razão, resultados relativos à caracterização da amostra bem como às correlações testadas incluíram as 23 voluntárias cujo conteúdo circulante de AG foi analisado. Adicionalmente, seis (6) gestantes não realizaram o segundo R24h, resultando em dezessete (17) mulheres cujo consumo alimentar de lipídios foi estimado (Figura 1). A decisão de investigar a presença de polimorfismo nas 31 voluntárias, apesar de a impossibilidade de obtenção da totalidade dos demais resultados pretendidos respaldou-se no reconhecimento da relevância destes dados, tendo em vista este ser o primeiro estudo que identificou alterações nos genes FADS1 e FADS2 em mulheres brasileiras.

Apresentando, em média, idade correspondente a 28 anos e renda *per capita* próxima a dois salários mínimos, a maioria das gestantes investigadas era casada ou mantinha união estável, trabalhava fora de casa e todas haviam completado o ensino fundamental. A cor da pele autodeclarada mais prevalente foi a branca (Tabela 1). Ademais, nenhuma das gestantes relatou ocorrência de doenças obstétricas por ocasião do recrutamento e também não referiram utilização de tabaco e/ou drogas. Dez (10) mulheres estavam ingerindo suplemento nutricional, contendo ácido fólico, sulfato ferroso e iodo (7, 2 e 1 gestante, respectivamente) e apenas uma fazia uso de algum tipo de medicamento (fluoxetina).

Na tabela 2 estão apresentados os resultados relativos à estimativa do consumo alimentar das voluntárias. Lipídios constituíram cerca de 33 % do consumo energético total, estimado por meio dos dois R24h, e a ingestão de ácidos graxos polinsaturados representou quase 17 % do consumo dietético total de lipídios.

O percentual de gestantes portadoras do polimorfismo nos dois alelos foi maior para o SNP rs174553 (9,7%; n = 3), enquanto apenas 1 pessoa era portadora homozigota do SNP rs174575 (3,2%). No entanto, o número de mulheres heterozigotas foi maior para o SNP rs174575 (41,9%; n = 13). Em ambos os polimorfismos, a maior prevalência

foi de pessoas homozigotas para o alelo mais frequente, ou seja, indivíduos que não apresentavam polimorfismo (Tabela 3).

Os dados obtidos após análise cromatográfica dos ácidos graxos extraídos das amostras de eritrócitos das gestantes estão apresentados na tabela 4. Foi identificado conteúdo expressivamente mais elevado do ácido graxo essencial LA frente ao de ALA De modo correspondente, o AA, derivado do ácido graxo LA, também estava presente em maiores proporções, comparado aos teores dos principais derivados do ALA (EPA e DHA).

Para as análises de associação, devido ao número reduzido de portadoras homozigotas dos polimorfismos nos SNP estudados, as gestantes foram divididas em dois grupos: sem e com polimorfismo (grupos a e b, respectivamente). Deste modo, para as gestantes portadoras do SNP rs174575 verificou-se maior concentração de EPA nos eritrócitos. Nenhum outro ácido graxo demonstrou associação com o polimorfismo do SNP em questão. No intuito de estimar a atividade das enzimas dessaturases D5D e D6D, calculou-se a razão de EPA/ALA e AA/LA, respectivamente. Nenhuma destas atividades enzimáticas demonstrou ter associação com o polimorfismo (Tabela 5).

Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de ácidos graxos nos eritrócitos maternos entre gestantes sem (a) e com (b) polimorfismo para o SNP rs174553 (Tabela 6).

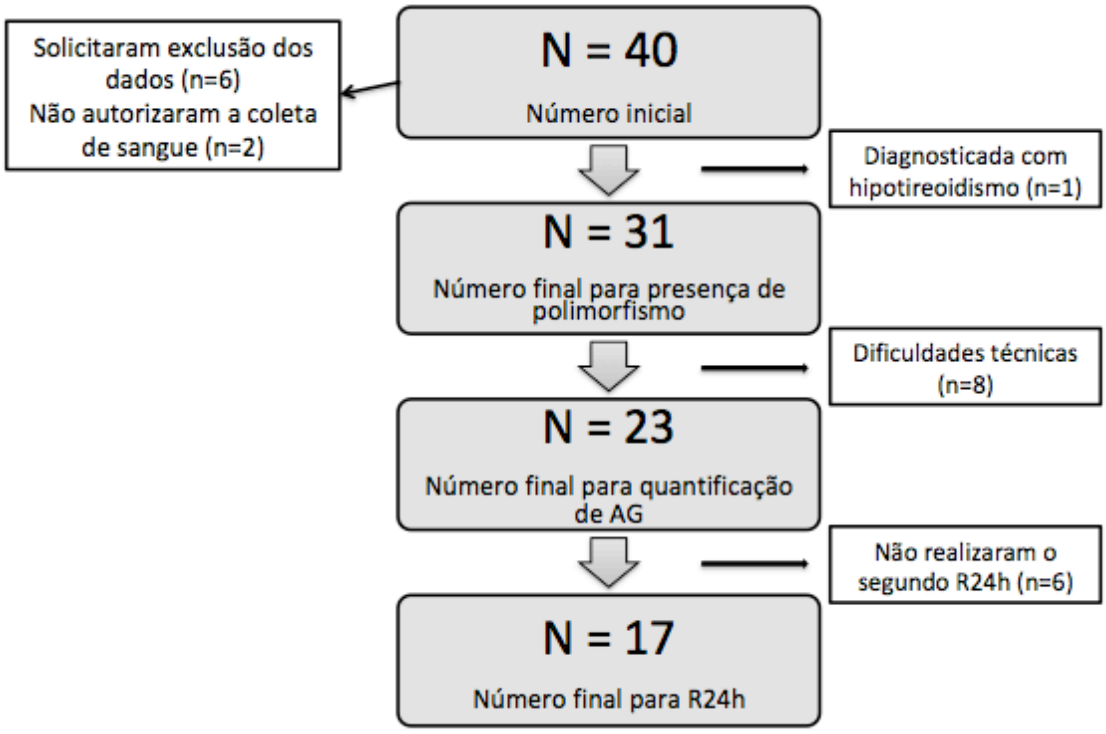


**Figura 1.** Fluxograma de perdas de segmento das gestantes voluntárias e tamanho amostral. R24h, recordatório 24 horas; AG, ácidos graxos.

**Tabela 1.** Características sociodemográficas das gestantes

| **Variável contínua** | **Descrição média ± DP (N=23)** |
|---|---|
| | **N = 23** |
| **Idade materna (anos)** | 28,05 ± 4,90 |
| **Peso pré-gestacional (kg)** | 57,22 ± 7,47 |
| **Estatura pré-gestacional (m)** | 1,60 ± 0,07 |
| **IMC pré-gestacional (kg/m²)** | 22,33 ± 1,80 |
| **Renda *per capita* (reais)** | 1791,25 ± 719,59 |
| **Variável categórica** | **Descrição % (n)** |
| | **N = 23** |
| **Estado civil** | |
| Solteira | 13,04% (n = 3) |
| Casada/união estável | 86,9% (n = 20) |
| Viúva | 0 |
| **Ocupação** | |
| Dona de casa | 39,13% (n = 9) |
| Trabalha fora | 60,87% (n = 14) |
| Estudante | 0 |
| **Escolaridade** | |
| Ensino fundamental incompleto | 0 |
| Ensino fundamental completo | 100% (n = 23) |
| **Cor da pele** | |
| Branca | 65,22% (n = 15) |
| Não branca | 34,78% (n = 8) |
| Dona de casa | 39,13% (n = 9) |

DP, desvio padrão; IMC, índice de massa corporal.

**Tabela 2.** Média das estimativas de consumo alimentar materno

| Variável | Descrição | % VET |
|---|---|---|
| | **(N = 17)** | **(N = 17)** |
| **Energia (kcal)** | | |
| média ± DP | 1.897 ± 546 | 100% |
| mediana (mín.; máx.) | 1.969 (851; 2,702) | |
| **Proteína (g)** | | |
| média ± DP (% VET) | 78,24 ± 27,26 | 16% |
| mediana (mín.; máx.) | 82,89 (38,11; 130,25) | |
| **Carboidrato (g)** | | |
| média ± DP (% VET) | 243,1 ± 80,34 | 51% |
| mediana (mín.; máx.) | 263,85 (102,73; 401,9) | |
| **Lipídio (g)** | | |
| média ± DP (%VET) | 70,95 ± 27,52 | 33% |
| mediana (mín.; máx.) | 70,89 (27,7; 130,8) | |
| **AGS (g)** | | |
| média ± DP | 24,44 ± 10,02 | 11,60% |
| mediana (mín.; máx.) | 21,28 (10,74; 48,56) | |
| **AGMI (g)** | | |
| média ± DP | 23,65 ± 12,27 | 11,22% |
| mediana (mín.; máx.) | 23,31 (9,4; 59,7) | |
| **AGPI (g)** | | |
| média ± DP | 11,82 ± 6,39 | 5,61% |
| mediana (mín.; máx.) | 10,12 (3,47; 23,76) | |
| **AGT (g)** | | |
| média ± DP | 3,67 ± 2,39 | 1,74% |
| mediana (mín.; máx.) | 3,35 (0,86; 8,72) | |

Mín., valor mínimo; máx., valor máximo; DP, desvio padrão; %VET, percentual do valor energético total; AGS, ácido graxo saturado; AGMI, ácido graxo monoinsaturado; AGPI, ácido graxo poliinsaturado; AGT, ácidos graxos *trans.*

**Tabela 3.** Frequência alélica do genótipo materno para os SNP rs174553 do gene FADS1 e rs174575 do gene FADS2

| Gene | SNP | Genótipo | Descrição |
|---|---|---|---|
| | | | **(N = 31)** |
| FADS1 | **rs174553 (MAF %)** | | **(29)** |
| | Sem polimorfismo (grupo a) | AA | 16 (51,6) |
| | Polimorfismo em 1 alelo | AG | 12 (38,7) |
| | Polimorfismo nos 2 alelos | GG | 3 (9,7) |
| | Com polimorfismo (grupo b) | AG + GG | 15 (48,4) |
| FADS2 | **rs174575 (MAF %)** | | **(24)** |
| | Sem polimorfismo (grupo a) | CC | 17 (54,8) |
| | Polimorfismo em 1 alelo | CG | 13 (41,9) |
| | Polimorfismo nos 2 alelos | GG | 1 (3,2) |
| | Com polimorfismo (grupo b) | CG + GG | 14 (45,2) |

MAF, *minor allele frequency;* SNP, *single nucleotide polymorphism*; FADS, *fatty acid desaturase.*

**Tabela 4.** Composição de ácidos graxos em eritrócitos maternos

| Variável* | Descrição |
|---|---|
| | **(N = 23)** |
| **LA** | |
| média ± DP | 9,35 ± 3,1 |
| mediana (mín.; máx.) | 10,24 (4,29; 13,95) |
| **ALA** | |
| média ± DP | 0,4 ± 0,13 |
| mediana (mín.; máx.) | 0,37 (0,17; 0,76) |
| **EPA** | |
| média ± DP | 0,49 ± 0,18 |
| mediana (mín.; máx.) | 0,47 (0,24; 1,1) |
| **DHA** | |
| média ± DP | 4,09 ± 1,07 |
| mediana (mín.; máx.) | 4,03 (2,08; 6,02) |
| **AA** | |
| média ± DP | 9,44 ± 2,87 |
| mediana (mín.; máx.) | 8,31 (6,58; 15,75) |
| **DGLA** | |
| média ± DP | 1,35 ± 0,49 |
| mediana (mín.; máx.) | 1,45 (0,31; 2,12) |
| **DPA** | |
| média ± DP | 1,89 ± 0,44 |
| mediana (mín.; máx.) | 1,99 (0,89; 2,39) |
| **EPA/ALA (D5D)** | |
| média ± DP | 1,31 ± 0,57 |
| mediana (mín.; máx.) | 1,16 (0,65; 3,12) |
| **AA/LA (D6D)** | |
| média ± DP | 1,10 ± 0,39 |
| mediana (mín.; máx.) | 1,14 (0,58; 1,97) |

*Ácidos graxos expressos em g por 100 gramas de ésteres metílicos de ácidos graxos; DP, desvio padrão; mín., valor mínimo; máx., valor máximo; LA, ácido linoleico; ALA, ácido alfa-linolenico; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosaexaenoico; AA, ácido araquidônico; DGLA, ácido dihomogamalinoleico; DPA, ácido docosapentaenoico; D5D, delta-5-dessaturase; D6D, delta-6-dessaturase.

**Tabela 5.** Comparação entre os ácidos graxos presentes nos eritrócitos maternos de indivíduos sem (a) e com (b) polimorfismo no gene FADS2 SNP rs174575

| Variável | Gene (rs174575) | | P | p* |
|---|---|---|---|---|
| | Sem polimorfismo (grupo a) | Com polimorfismo (grupo b) | | |
| **LA** | | | 0,439 | 0,373 |
| média ± DP | 8,9 ± 3,22 | 9,94 ± 2,99 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 10,44 (4,29; 12,86) | 10,12 (4,77; 13,95) | | |
| **ALA** | | | 0,291 | 0,097 |
| média ± DP | 0,37 ± 0,08 | 0,44 ± 0,17 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 0,37 (0,25; 0,52) | 0,39 (0,17; 0,76) | | |
| **EPA** | | | **0,014** | 0,069 |
| média ± DP | 0,41 ± 0,13 | 0,59 ± 0,19 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 0,37 (0,24; 0,72) | 0,55 (0,41; 1,1) | | |
| **DHA** | | | 0,640 | 0,970 |
| média ± DP | 4,19 ± 0,95 | 3,97 ± 1,26 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 4,03 (2,27; 6,02) | 4,01 (2,08; 5,9) | | |
| **AA** | | | 0,081 | 0,379 |
| média ± DP | 8,46 ± 2,14 | 10,71 ± 3,29 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 8,15 (6,93; 15,25) | 10,53 (6,58; 15,75) | | |
| **DGLA** | | | 0,505 | 0,628 |
| média ± DP | 1,30 ± 0,49 | 1,44 ± 0,52 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 1,41 (0,31; 2,04) | 1,7 (0,43; 2,12) | | |
| **DPA** | | | 0,271 | 0,529 |
| média ± DP | 1,98 ± 0,33 | 1,74 ± 0,56 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 2,05 (1,05; 2,37) | 1,65 (0,89; 2,39) | | |
| **EPA/ALA (D5D)** | | | 0,105 | 0,811 |
| média ± DP | 1,15 ± 0,44 | 1,55 ± 0,69 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 1,14 (0,65; 2,4) | 1,39 (0,8; 3,12) | | |
| **AA/LA (D6D)** | | | 0,936 | 0,590 |
| média ± DP | 1,11 ± 0,45 | 1,09 ± 0,31 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 1,05 (0,58; 1,97) | 1,14 (0,6; 1,58) | | |

Teste t-Student; * Modelo linear geral ajustado por ácidos graxos saturados, ácidos graxos monoinstaturados e ácidos graxos polinsaturados ingeridos. Mín., valor mínimo; máx., valor máximo; DP, desvio padrão; LA, ácido linoleico; ALA, ácido alfa-linolenico; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosaexaenoico; AA, ácido araquidônico; DGLA, ácido dihomogamalinoleico; DPA, ácido docosapentaenoico; D5D, delta-5-dessaturase; D6D, delta-6-dessaturase.

**Tabela 6.** Comparação entre os ácidos graxos presentes nos eritrócitos maternos de indivíduos sem (a) e com (b) polimorfismo no gene FADS1 SNP rs174553

| Variável | Gene (rs174553) Sem polimorfismo (grupo a) | Gene (rs174553) Com polimorfismo (grupo b) | P | p* |
|---|---|---|---|---|
| **LA** | | | 0,687 | 0,373 |
| média ± DP | 9,12 ± 2,98 | 9,66 ± 3,38 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 10,06 (4,29; 12,86) | 10,58 (4,77; 13,95) | | |
| **ALA** | | | 0,811 | 0,097 |
| média ± DP | 0,41 ± 0,13 | 0,39 ± 0,13 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 0,41 (0,25; 0,76) | 0,36 (0,17; 0,57) | | |
| **EPA** | | | 0,210 | 0,069 |
| média ± DP | 0,45 ± 0,14 | 0,54 ± 0,22 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 0,39 (0,24; 0,72) | 0,5 (0,33; 1,1) | | |
| **DHA** | | | 0,781 | 0,970 |
| média ± DP | 4,15 ± 1,18 | 4,02 ± 0,97 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 4,06 (2,08; 6,02) | 4,02 (2,33; 5,9) | | |
| **AA** | | | 0,335 | 0,379 |
| média ± DP | 8,92 ± 2,38 | 10,11 ± 3,41 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 8,39 (7,13; 15,25) | 8,19 (6,58; 15,75) | | |
| **DGLA** | | | 0,151 | 0,628 |
| média ± DP | 1,24 ± 0,43 | 1,54 ± 0,54 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 1,38 (0,31; 1,71) | 1,71 (0,43; 2,12) | | |
| **DPA** | | | 0,470 | 0,529 |
| média ± DP | 1,94 ± 0,4 | 1,8 ± 0,51 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 2,05 (1,05; 2,37) | 1,75 (0,89; 2,39) | | |
| **EPA/ALA (D5D)** | | | 0,152 | 0,811 |
| média ± DP | 1,17 ± 0,45 | 1,52 ± 0,7 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 1,14 (0,65; 2,4) | 1,34 (0,87; 3,12) | | |
| **AA/LA (D6D)** | | | 0,804 | 0,590 |
| média ± DP | 1,12 ± 0,44 | 1,08 ± 0,32 | | |
| mediana (mín.; máx.) | 1,05 (0,58; 1,97) | 1,14 (0,6; 1,58) | | |

Teste t-Student; * Modelo linear geral ajustado por ácidos graxos saturados, ácidos graxos monoinstaturados e ácidos graxos polinsaturados ingeridos. Mín., valor mínimo; máx., valor máximo; DP, desvio padrão; LA, ácido linoleico; ALA, ácido alfa-linolenico; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosaexaenoico; AA, ácido araquidônico; DGLA, ácido dihomogamalinoleico; DPA, ácido docosapentaenoico. D5D, delta-5-dessaturase; D6D, delta-6-dessaturase.

## 4. Discussão

Neste estudo, desenvolvido com gestantes eutróficas, estimamos o consumo de lipídios, avaliamos a presença de polimorfismo no gene FADS e quantificamos os teores de ácidos graxos nos eritrócitos destas mulheres. Ademais, verificamos a associação entre as concentrações de ácidos graxos polinsaturados com a presença do polimorfismo, considerando o consumo de lipídios fator de confundimento. O polimorfismo no gene FADS do SNP rs174575 foi associado à maior concentração eritrocitária de EPA e, adicionalmente, essa relação foi mitigada ao ajustar o modelo estatístico pelo consumo de lipídios, sendo estes resultados considerados os principais achados deste estudo. No entanto, não foi possível identificar diferenças significativas nas concentrações dos outros AGPICL investigados (DHA e AA) para o SNP rs174575, tampouco nas concentração dos AGPICL entre os genótipos do SNP rs174553.

Segundo os resultados da Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 [25], a média do consumo energético diário entre mulheres brasileiras de 19-59 anos, foi de 1.710 kcal, equiparando-se ao valor estimado neste estudo. No entanto, a estimativa do consumo total de lipídios (70,97 g), assim como a de ácidos graxos *trans* (3,67 g), foi superior aos valores registrados pela POF (52,30 e 2,20 g, respectivamente). A tendência de maior consumo de ácidos graxos saturados, entretanto, manteve-se entre os dois estudos, apontando, ainda, que AGPI são, dentre os lipídios analisados, aqueles consumidos em menores proporções. Adicionalmente, um estudo realizado em 600 gestantes, investigou o consumo de lipídios no primeiro trimestre de gestação, sendo os valores de consumo total de lipídios (73g), de ácidos graxos saturados (25g) e polinsaturados (13g), valor similar ao encontrado pelo presente estudo (70,97; 24,44; 11,82) [26].

Diversos estudos indicam papel protetor dos AGPI para a saúde, especialmente no que concerne às doenças cardiovasculares. Ácidos graxos da família n-3, em especial, têm sido associados com propriedades antiarrítmicas, e antitrombóticas, particularmente por ação do EPA, que já demonstrou inibir a produção de tromboxano A2, prostaglandina envolvida no processo de agregação plaquetária e vasoconstrição. A função endotelial também é afetada positivamente por esta família de AGPI, visto que o

efeito vasodilatador do óxido nítrico é aumentado pelo EPA. Outros efeitos incluem, diminuição do colesterol total e triglicerídeos, por inibir a produção da lipoproteína de muito baixa densidade e dos triglicerídeos no fígado [27].

Adicionalmente, em gestantes, a suplementação com AGPICL n-3 tem sido relacionada ao melhor desenvolvimento cognitivo do concepto, além de seu papel essencial para a formação adequada da retina e do cérebro [3]. Em situações particulares, como no diabetes gestacional, condição capaz de levar à macrossomia fetal, estudos em modelo animal têm demonstrado que o consumo de ácidos graxos n-3 diminui as chances do feto de ocorrência desse desfecho obstétrico, além de proteger a gestante contra o estresse oxidativo [28].

A importância do consumo de proporções balanceadas de ácidos graxos durante a gestação é referida na literatura. Não somente a ingestão de n-3 interfere no desenvolvimento adequado do feto, como também já foi descrito que o baixo peso ao nascer está associado ao consumo exacerbado de ácidos graxos n-6 e *trans* [29]. Deste modo, a estimativa de maior consumo de ácidos graxos *trans,* pelas gestantes neste estudo, comparada à média de consumo de brasileiras, merece destaque. Ademais, também é reconhecido que o consumo alimentar é capaz de alterar as concentrações circulantes de diferentes ácidos graxos [30].

O polimorfismo também constitui fator relacionado às variações nas concentrações de lipídios em diferentes compartimentos biológicos humanos. Deste modo, pesquisas relacionadas a esta temática são crescentes. Um estudo realizado com 409 crianças na Dinamarca também encontrou percentual reduzido de homozigotos para o SNP rs174575 (3,5 %) e frequência alélica secundária de 21,3%, similar ao nosso estudo [31]. Mesmo em amostras mais expressivas, com mais de 1.400 indivíduos, como foi no trabalho realizado na Ilha de Seychelles, o percentual de homozigotos alcançou 5,5%. Vale ressaltar que os residentes desta região possuem descendências variadas como africana, asiática e europeia [7].

O estudo de Shaeffer e colaboradores [32], realizado em 2006, incluindo 727 caucasianos, revelou o percentual de carreadores homozigotos do alelo secundário para o SNP rs174553 de 12%, valor similar ao encontrado neste trabalho. Em 2015, Scholtz e colaboradores [12] identificaram a presença do polimorfismo no SNP rs174553 em 205

mulheres, em sua maioria caucasianas, subdivididas em grupo controle e grupo suplementado com DHA, encontrando as taxas de 10,42% e 6,42%, respectivamente, de pessoas com o polimorfismo nos dois alelos. Ademais, encontraram frequência alélica secundária de 28%, similar ao valor encontrado pelo presente estudo.

Adicionalmente à investigação da prevalência de polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo lipídico, o conteúdo de ácidos graxos em diferentes compartimentos biológicos também constitui importante variável para o estabelecimento de correlações. A análise de ácidos graxos presentes no sangue de gestantes, realizada por Koletzko e colaboradores em 2011 [9], resultou em valores expressivamente mais reduzidos para os ácidos graxos ALA, EPA, AA, DPA, DHA, bem como para a razão LA/AA, comparados aos nossos resultados, enquanto valores mais elevados foram encontrados apenas para o ácido graxo essencial LA e para a razão ALA/EPA. Ressalta-se, no entanto, a diferença da etnia das populações em questão, de origens distintas (brasileira e inglesa), apresentando costumes e cultura alimentar diversos. Ademais, ao considerar a idade gestacional, fator que pode estar associado às alterações fisiológicas nas frações lipídicas circulantes [33], cabe destacar que no estudo de Koletzko e colaboradores [9], a coleta de sangue ocorreu em períodos distintos da gestação, enquanto em nosso estudo, as análises de AG foram efetuadas nas amostras coletadas exclusivamente até a décima terceira semana gestacional.

Um estudo observacional, realizado com gestantes chilenas [30], comparou o conteúdo circulante de AG destas mulheres com os valores obtidos em outras pesquisas que incluíram mulheres chinesas [34], belgas [35] e americanas [36]. É possível identificar diferenças entre estes quatro grupos populacionais. Para o ácido graxo LA, por exemplo, foram descritos valores (g/ 100g) correspondentes a 19,1 (belgas), 15,0 (chinesas), 14,6 (chilenas) e 9,0 (americanas). Os valores do presente estudo foram similares ao verificado entre as mulheres americanas.

Pesquisas destinadas a investigar a associação entre variantes do gene FADS e alterações nas concentrações de ácidos graxos no sangue (eritrócito ou plasma), encontraram, em sua maioria, associação com AA [32,38]. Alguns estudos demonstraram relação do polimorfismo com o EPA [32,39]. No que diz respeito ao ácido DHA, entretanto, poucos estudos foram capazes de encontrar alguma forma de

associação, possivelmente por suas concentrações séricas estarem intimamente relacionadas ao consumo alimentar, considerando a reduzida capacidade do organismo humano em produzir DHA por metabolismo endógeno, [12,31]. De modo similar, nossa análise não revelou associação da variante gênica SNP rs174575 com o DHA.

Sabe-se que os genes FADS1 e FADS2 codificam as enzimas D5D e D6D, respectivamente [6]. Deste modo, polimorfismos nesse gene estariam associados á aumento nas concentrações de LA e ALA e diminuição de AA, EPA e DHA [11,12,13]. No nosso estudo, no entanto, a associação encontrada entre o SNP 1745757 do gene FADS2 e EPA foi de aumento deste produto nos eritrócitos maternos. Ressalta-se, ainda, que esta relação pode ser explicada pelo consumo de lipídios das gestantes investigadas. Após ajuste do modelo estatístico empregado pela ingestão de ácidos graxos monoinsaturados, polinsaturados e saturados, não verificou-se relação entre o polimorfismo do gene FADS 2 SNP rs174575 e o EPA. Deste modo, a ingestão de lipídios parece modular os efeitos produzidos por esta variação gênica.

Considerando a importância do consumo alimentar, o estudo de Roke e colaboradores [40] avaliou a mudança nos hábitos dietéticos em indivíduos que haviam sido informados de seus genótipos em relação ao gene FADS. Os voluntários foram esclarecidos acerca das possíveis consequências desencadeadas pelo polimorfismo neste gene para que pudessem tomar decisões sobre suas escolhas alimentares, baseadas no seu teste de genotipagem. Dois grupos participaram desta pesquisa, um de geneticistas, e outro de indivíduos que não possuíam relação com o estudo da genética. Em ambos os grupos foi possível identificar aumento no consumo de EPA e DHA e, consequentemente a elevação destes AGPICL no sangue.

Este estudo propôs investigar as consequências de polimorfismos no gene FADS em gestantes do município do Rio de Janeiro. Assume, portanto, caráter pioneiro ao examinar esta temática em mulheres brasileiras. Cabe salientar a eleição deste público alvo, na medida em que as alterações metabólicas decorrentes dos polimorfismos pesquisados podem se traduzir em prejuízos para o adequado desenvolvimento do feto, produzindo efeitos deletérios, inclusive em longo prazo. Ademais, considerando as alterações fisiológicas inerentes ao período gestacional, a escolha de avaliar somente mulheres no primeiro trimestre de gestação possivelmente minimizou os efeitos dessas

alterações sobre os nossos resultados. Entretanto, o tamanho amostral pode ser considerado a principal limitação deste trabalho.

Concluímos que apenas a variante gênica do SNP rs174575 apresentou associação com o conteúdo de EPA, enquanto que para o SNP rs174553 nenhuma relação pode ser estabelecida. Ademais, o consumo alimentar pareceu influenciar os resultados encontrados no presente estudo, visto que ao ajustar o modelo estatístico por essa variável, não houve diferença entre os genótipos.

Futuras pesquisas, de maior tamanho amostral, realizadas em gestantes brasileiras, são, ainda, necessárias para compreender com mais precisão a relação entre o polimorfismo no gene FADS e as alterações nas concentrações de AA, EPA e DHA, levando em consideração, ainda, a ingestão alimentar.

**Referências**


1. González HF, Visentin S. Nutrientes y neurodesarollo: lipídios. Actualización. *Arch Argent Pediatr.* 2016; 114(5):472-476.

2. Koletzko B, Boey CCM, Campoy C, Carlson SE, Chang N, Guillermo-Tuazon MA, et al. Current information and Asian perspectives on long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation, and infancy: systematic review and practice recommendations from and early nutrition academy workshop. *Ann Nutr Metab.* 2014;65(1):49-80.

3. Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega-3 fatty aids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Adv Nutr.* 2012; 3(1):1-7.

4. Mennitti LV, Oliveira JL, Morais CA, Estadella D, Oyama LM, Oller do Nascimento CM, et al. Type of fatty acids in maternal diet during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. *J Nutr Biochem.* 2015;26(2):99-111.

5. Calder PC. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *J Nutr.* 2012; 142(3):592S-599S.

6. Zhang JY, Kothapalli KSD, Brenna JT. Desaturase and elongase limiting endogenous long chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Curr Opin Nutr Metab Care.* 2016;19(2):103-110.

7. Yeates AJ, Love TM, Engstrom K, Mulhern MS, McSorley EM, Grzesik K, et al. Genetic variation in *FADS* genes is associated with maternal long-chain PUFA status but not with cognitive development of infants in a high fish-eating observational study. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015;102-103:13-20.

8. Steer CD, Lattka E, Koletzko B, Golding J, Hibbeln JR. Maternal fatty acids in pregnancy, FADS polymorphisms, and child intelligence quotient at 8 y of age. *Am J Clin Nutr.* 2013; 98(6): 1575-1582.

9. Koletzko B, Lattka E, Zeilinger S, Illig T, Steer C. Genetic variants of the fatty acid desaturase gene cluster predict amounts of red blood cell docosahexaenoic acid and other polyunsaturated fatty acids in pregnant women: findings from the avon longitudinal study of parents and children. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(1):211-219.

10. Puentes AG, Goyanes RM, Tonato AMC, Torres-Espínola FJ, García MA, Almeida L, et al. Association of maternal weight wit FADS and ELOVL genetic variants and fatty acid levels – The PREOBE follow-up. *PLoS ONE.*

2017;12(6):e0179135.

11. Barman M, Nilsson S, Torinsson Naluai A, Sandin A, Wold AE, Sandberg AS. Single nucleotide polymorphism in the FADS gene cluster but not the ELOV2 gene are associated with serum polyunsaturated fatty acid composition and development of allergy (in a Swedish birth cohort). *Nutrients.* 2015;7(12):10100 - 10115.

12. Scholtz SA, Kerling EH, Shaddy DJ, Li S, Thodosoff JM, Colombo J, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in pregnancy differentially modulates arachidonic acid and DHA status across FADS genotypes in pregnancy. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015;94:29-33.

13. Lattka E, Rzehak P, Szabo E, Jakobik V, Weck M, Weyermann M, et al. Genetic variants in the FADS gene cluster are associated with arachidonic acid concentrations of human breast milk at 1.5 and 6 mo postpartum and influence the course of milk dodecanoic, tetracosenoic, and *trans*-9-octadecenoic acid concentrations over the duration of lactation. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93(2): 382-391.

14. Xie L, Innis SM. Genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster are associated with altered (n-6) and (n-3) essential fatty acids in plasma and erythrocyte phospholipids in women during pregnancy and in breast milk during lactation. *J Nutr.* 2008; 138(11):2222-2228.

15. 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):1196-1210.

16. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução CNS no. 466, de 12 de dezembro de 2012, nos termos do Decreto de Delegação de Competência de 12 de novembro de 1991. DOU no 12. Brasília: DF, S1:59. 2017. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/resolucoes.htm> Acesso em: 10 out. 2017.

17. World Health Organization (WHO) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, Geneva, 2002.

18. Salvador Castell G, Serra-Majem L, Ribas-Barba L. What and how much do we eat? 24-hour dietary recall method. *Nutr Hosp.* 2015; 31(suppl. 3): 46-48.

19. Tabela brasileira de composição de alimentos TACO / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: NEPAUNICAMP, 2011.

20. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2015. Disponível em https://ndb.nal.usda.gov/.

21. Association of Official Analytical Chemists (AOCS). Direct methylation of lipids in foods by alkali hydrolysis. Sampling and Analyses of Commercial Fats and Oils, 2011.

22. Fonseca AFCPD, Mucci DB, Assumpção RP, Marcondes H, Sardinha FLC, Silva SV, et al. Differential long-chain polyunsaturated fatty acids status and placental transport in adolescent pregnancie s. *Nutrients.* 2018; 10(2): pii: E220.

23. Fraga ACSA, Theme Filha MM. Factors associated with gestational weight gain in pregnant women in Rio de Janeiro, Brazil, 2008. *Cad Saude Publica*. 2014;30(3): 633-644.

24. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Critério de classificação econômica Brasil 2016. São Paulo: Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa; 2016.

25. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil/ IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento; 2008-2009.

26. Jia X, Pakseresht M, Wattar N, Wildgrube J, Sontag S, et al. Women who take take n-3 supplements during pregnancy and lactation meet the recommended intake. *Appl Physiol Nutr Metab,* 2015;40(5):474-481.

27. Jain AP, Aggarwal KK, Zhang PY. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(3):441-445.

28. Yessoufou A, Nekoua MP, Gbankoto A, Mashalla Y, Moutairou K. Beneficial effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids in gestacional diabetes: consequences in macrossomia and adulthood obesity. *J Diabetes Res.* 2015; 2015: 731434.

29. Kabaran S, Besler HT. Do fatty acids affect fetal programming? *J Health Popul Nutr.* 2015; 33:14.

30. Bascunán KA, Valenzuela R, Chamorro R, Valencia A, Barrera C, Puigrredon C, et al. Polyunsaturated fatty acid composition of maternal diet and erythrocyte phospholipid status in Chilean pregnant women. *Nutrients.* 2014;6(11):4918-4934.

31. Harslof LBS, Larsen LH, Ritz C, Hellgren LI, Michaelson KF, Vogel U, et al. FADS genotype and diet are important determinants of DHA status: a cross-sectional study in Danish infants. *Am J Clin Nutr.*2013; 96(6):1403-1410.

*32.* Schaeffer L, Gohike H, Muller M, Heid IM, Palmer LJ, Kompauer I, et al. Common genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids. *Hum Mol Genet.* 2006; 15(11):1745-1756.

33. Zeng Z, Liu F, Li S. Metabolic adaptations in pregnancy: a review. *Ann Nutr Metab.* 2017;70:59-65.

34. Zhang J, Wang C, Gao Y, Li L, Man Q, Song P, et al. Different intakes of n-3 fatty acids among pregnant women in 3 regions of China with contrasting dietary patterns are reflected in maternal but not in umbilical erythrocyte phosphatidylcholine fatty acid composition. *Nutr Res.* 2013, 33, 613–621.

35. De Vriese SR, Matthys C, de Henauw S, de Backer G, Dhont M, Christophe AB. Maternal and umbilical fatty acid status in relation to maternal diet. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2002, 67, 389–396.

36. Donahue SM, Rifas-Shiman SL, Olsen SF, Gold DR, Gillman MW, Oken E. Associations of maternal prenatal dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids with maternal and umbilical cord blood levels. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009, 80, 289–296.

37. Mathias RA, Pani V, Chilton FH. Genetic Variants in the FADS gene: implications for dietary recommendations for fatty acid intake. *Curr Nutr Rep.* 2014;3(2):139-148.

38. Gonzalez-Casanova I, Rzehak P, Stein AD, Feregrino RG, Dommarco JAR, Barraza-Villarreal A, et al. Maternal single nucleotide polymorphism in the fatty acid desaturase 1 and 2 coding regions modify the impact of prenatal supplementation with DHA on birth weight. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):1171-1178.

39. Baylin A, Ruiz-Narvaez E, Kraft P, Campos H. Alpha-linolenic acid, delta-6-desaturase gene polymorphism, and the risk of nonfatal myocardial infarction. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(2):554-560.

40. Roke K, Walton K, Klingel SL, Harnett A, Subedi S, Haines J, et al. Evaluating changes in omega-3 fatty acid intake after receiving personal FADS1 genetic information: a randomized nutrigenetic intervention. *Nutrients.* 2017; 9(3): 240.

## 7 CONCLUSÃO

Concluímos que apenas a variante gênica do SNP rs174575 apresentou relação com o conteúdo de EPA, enquanto que para o SNP rs174553 nenhuma relação pode ser estabelecida. Ademais, o consumo alimentar de lipídios pareceu influenciar os resultados encontrados no presente estudo, visto que ao ajustar o modelo estatístico por esse fator, não foi verificada diferença entre genótipos.

Todos os achados reportados pelo presente estudo assumem ainda maior importância, ao considerar que nenhuma outra pesquisa relacionada ao polimorfismo no gene FADS foi desenvolvida com brasileiros. Adicionalmente, a escolha de realizar esta investigação em gestantes, reflete a importância em entender as consequências desta variante gênica a partir da concepção e perpassando por todos os ciclos da vida.

Destaca-se, no entanto, a necessidade da realização de novas pesquisas, envolvendo brasileiros, da infância à velhice, com maior tamanho amostral, na tentativa de elucidar como ocorre a associação do polimorfismo no gene FADS e as alterações nas concentrações de AGPICL e se o consumo alimentar é, de fato, capaz de modular essas relações.

## REFERÊNCIAS


AKBARI, Z.; MANSOURIAN, M.; KELISHADI, R. Relationship of the intake of different food groups by pregnant mothers with the birth weight and gestational age: need for public and individual educational programs. **Journal of Education and Health Promotion**, v. 4, p. 23, 2015.

AMEUR, A. et al. Genetic adaptation of fatty-acid metabolism: a human-specific haplotype increasing the biosynthesis of long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids. **American Journal of Human Genetics,** v. 90, n.5, p.809-820, 2012.

ASHLEY-MARTIN, J. et al. Prenatal exposure to phthalates, bisphenol A and perfluoroalkyl substances and cord blood levels of IgE, TSLP and IL-33. **Environmental Research**, v.140, p.360-308, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOCS). Direct methylation of lipids in foods by alkali hydrolysis. **Sampling and Analyses of Commercial Fats and Oils**, 2011.

BALOGUN, K. A.; CHEEMA, S. K. The expression of neurotrophins is differentially regulated by omega-3 polyunsaturated fatty acids at weaning and postweaning in C57BL/6 mice cerebral cortex. **Neurochemistry International**, v.66, p. 33-42, 2014.

BAYLIN, A. et al. Alpha-linolenic acid, delta6-desaturase gene polymorphism, and the risk of nonfatal myocardial infraction. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, n.2, p.554-560, 2007.

BARMAN, M. et al. Single nucleotide polymorphism in the FADS gene cluster but not the ELOV2 gene are associated with serum polyunsaturated fatty acid composition and development of allergy (in a Swedish birth cohort). **Nutrients,** v. 7, n.12, p. 10100 - 10115, 2015.

BELCHIOR, T. et al. Omega-3 fatty acids protect from diet-induced obesity, glucose intolerance, and adipose tissue inflammation through PPARγ-dependent and PPARγ-independent actions**. Molecular Nutrition and Food Research**, v.59, n.5, p.957-967, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução CNS nº. 466, de 12 de dezembro de 2012**,

nos termos do Decreto de Delegação de Competência de 12 de novembro de 1991. DOU nº 12. Brasília: DF, S1:59, 2017. Disponível em: < http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/resolucoes.htm> Acesso em: 10 out. 2017.

CALDER, P. C. Fatty acids and inflammation: the cutting edge between food and pharma. **European Journal of Pharmacology**, v. 668, suppl. 1, p. S50-S58, 2011.

CALDER, P. C. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. **The Journal of Nutrition**, v.142, n.3, p.592S-599S, 2012.

CANDELA, C. G. et al. Importance of balanced omega 6/omega-3 ratio for maintenance of health. Nutritional recomendations. **Nutrición Hospitalaria,** v. 26, n. 2, p. 323-329, 2011.

CASTELL, G. S. et al. What and how much do we eat? 24-hour dietary recall method. **Nutrición Hospitalaria,** v. 31, suppl. 3, p. 46-48, 2015.

CLARKE, S. D. et al. Fatty acid regulation of gene expression: a genomic explanation for the benefits of the mediterranean diet. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.967, p.283-298, 2002.

CONNOR, W.E. Alpha-linolenic acid in health and disease. **The American Journal of Clinical Nutrition,** v. 69, n. 5, p. 827-828, 1999.

CORMIER, H. et al. Association between polymorphism in the fatty acid desaturase gene cluster and the plasma triacyglerol response to an n-3 PUFA supplementation. **Nutrients,** v. 4, n. 8, p. 1026-1041, 2012.

DE VRIESE, S. R. et al. Maternal and umbilical fatty acid status in relation to maternal diet. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.67, n.6, p.389-396, 2002.

DEMMELMAIR, H.; KOLETZKO, B. Importance of fatty acid in the perinatal period. **World Review of Nutrition and Dietetics,** v. 112, p. 31-47, 2015.

DWARKANATH, P. et al. Polyunsaturated fatty acid consumption and concentration

among South Indian women during pregnancy. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition,** v. 18, n.3, p. 389-394, 2009.

FENECH, M. et al. Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics,** v. 4, n. 2, p. 69-89, 2011.

FLECKENSTEIN-ELSEN, M. et al. Eicosapentaenoic acid and arachidonic acid differentially regulate adipogenesis, acquisition of a brite phenotype and mitochondrial function in primary human adipocytes. **Molecular Nutrition and Food Research,** v. 60, n. 9, p. 2065-2075, 2016.

GILLINGHAM, L.G. et al. Dietary oils and FADS1-FADS2 genetic variants modulate [13C]a-linolenic acid metabolism and plasma fatty acid composition. **The American Journal of Clinical Nutrition,** v. 97, n. 1, p. 195-207, 2013.

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J.M. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) – Implications for dietary recommendations. **Biochimie**, v.93, n.1, p.7-12, 2011.

HAGGARTY, P. Fatty acid supply to the human fetus. **Annual Review of Nutrition**, v.30, p.237-255, 2010.

HAGGARTY, P. Meeting the fetal requirement for polyunsaturated fatty acids in pregnancy. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v.17, n.2, p.151-155, 2014.

HOILE, S.P. et al. Supplementation with N-3 long-chain polyunsaturated fatty acids or olive oil in men and women with renal disease induces differential changes in the DNA methylation of FADS2 and ELOVL5 in peripheral blood mononuclear cells. **PLoS One**. v.9, n.10, p. e109896, 2014.

INNIS, S. M. Fatty acids and early human development. **Early Human Development**, v.83, n.12, p.761-766, 2007.

INNIS, S. M. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.99, n.3, p.734S-741S, 2014.

INNIS, S. Metabolic programming of long-term outcomes due to fatty acid nutrition in early life. **Maternal and Child Nutrition**, v.7, suppl.2, p.112-123, 2011.

JANSSEN, C. I.; KILIAAN, A. J. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. **Progress in Lipid Research**, v.53, p.1-17, 2014.

JIN, W. Y. et al. Associations between maternal lipid profile and pregnancy complications and perinatal outcomes: a population-based study from China. **BMC Pregnancy and Childbirth,** v. 16, n. 60, p. 1-9, 2016.

KABARAN, S.; BESLER, H. T. Do fatty acids affect fetal programming? **Journal of Health, Population and Nutrition**, v.33, p.14, 2015.

KOLETZKO, B. et al. Programing research: where are we and where do we go from here? **The American Journal of Clinical Nutrition,** v. 94, suppl. 6, p. 2036S-2043S, 2011.

LATTKA, E. et al. Genetic variants in the FADS gene cluster are associated with arachidonic acid concentrations of human breast milk at 1.5 and 6 mo postpartum and influence the course of milk dodecanoic, tetracosenoic, and *trans*-9-octadecenoic acid concentrations over the duration of lactation. **The American Journal of Clinical Nutrition***,* v.93, n.2, p.382-391, 2011.

LATTKA, E. et al. Genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster as related to essential fatty acid metabolism. **Current Opinion in Lipidology***,* v. 21, n.1, p.64-69, 2010.

LAURITZEN, L. et al. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. **Progress in Lipid Research,** v. 40, n. 1-2, p. 1-94, 2001.

LOWENSOHN, R.I; STADLER, R.I.; NAZE, C. Current concepts of maternal nutrition. **Obstetrical and Gynecological Survey,** v. 71, n. 7, p.413-427, 2016.

LUDWIG, T. et al. Metabolic and immunomodulatory effects of n-3 fatty acids are different in mesenteric and epididymal adipose tissue of diet-induced obese mice. **America Journal of Physiology, Endocrinology and metabolism,** v. 304, n. 11, p. E1140-1156, 2013.

MALERBA, G. et al. SNPs of the FADS gene cluster are associated with polyunsaturated fatty acids in a cohort of patients with cardiovascular disease. **Lipids**, v.43, n.4, p.289-299, 2008.

MARTIN, C.A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e omega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição,** v. 19, n. 6, p. 1-11, 2006.

MATHIAS, R.A; PANI, V.; CHILTON, F.H. Genetic variants in the FADS gene: implications for dietary recommendations for fatty acid intake. **Current Nutrition Reports**, v.3, n.2, p.139–148, 2014.

MELDRUM, S.J. et al. Can polymorphism in the fatty acid desaturase (FADS) gene cluster alter the effects of fish oil supplementation on plasma and erythrocyte fatty acid profiles? An exploratory study. **European Journal of Nutrition,** p.1-12, 2017.

MENNITTI, L.V. et al. Type of fatty acids in maternal diet during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. **Journal of Nutritional Biochemistry,** v. 26, n. 7, p. 784-795, 2015.

MERINO, D.M.; MA, D.W.; MUTCH, D.M. Genetic variation in lipid desaturases and its impact on the development of human disease. **Lipids in Health and Disease,** v. 9, p. 63, 2010.

MINIHANE, A. M. Impact of genotype on EPA and DHA status and responsiveness to increased intakes. **Nutrients**, v.8, n.3, p.1-14, 2016.

MONIQUE, D.M. et al. Maternal essential fatty acid patterns during normal pregnancy and their relationship to the neonatal essential fatty acid status. **British Journal of Nutrition,** v. 74, p. 55-69, 1995.

MORAES, G.G. et al. Genotypic carriers of the obesity-associated FTO polymorphism exhibit different cardiometabolic profiles after an intervention. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.88, n.4, p.2331-2339, 2016.

MORALES, E. et al. Genetic variants of the *FADS* gene cluster and *ELOVL* gene family, colostrums LC-PUFA levels, breastfeeding, and child cognition. **PLoS One.** v.6, n.2, p.e17181, 2011.

MOTT, J.L.; MOHR, A.M. Overview of MicroRNA Biology. **Seminars in Liver Disease,** v.35, n.1, p.3-11, 2015.

NIKOLOPOULOU, E. et al. Arachidonic acid-dependent gene regulation during preadipocyte differentiation controls adipocyte potential. **Journal of Lipid Research,** v. 55, n. 12, p. 2479-2490, 2014.

OKOJIE, F. O. et al. Comparative study of lipid profile of normal pregnant women in the different trimesters. **Schoolars Research Library,** v. 3, n. 3, p. 528-532, 2011.

PERINI, L. et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6 : metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v.23, n.6, p.1075-1086, 2010.

RALSTON, C. J. et al. Polyunsaturated fatty acid regulation of adipocyte FADS1 and FADS2 expression and function. **Obesity (Silver Spring)**, v.23, n.4, p.725-728, 2015.

RUDOLPH, M.C. et al. Low neonatal plasma n-6/n-3 PUFA ratios regulate offspring adipogenic potential and condition adult obesity resistance. **Diabetes,** Pii: db170890, 2017.

SANTOS, M.M.A.S. et al. Estado nutricional pré-gestacional, ganho de peso materno, condições da assistência pré-natal e desfechos perinatais adversos entre puérperas adolescentes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.15, n.1, p.143-154, 2012.

SCHAEFFER, L. et al. Common genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids. **Human Molecular Genetics**, v.15, n.11, p.1745-1756, 2006.

SCHOLTZ, S. A. et al. Docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in pregnancy differentially modulates arachidonic acid and DHA status across FADS genotypes in pregnancy. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids***,* v.94, p. 29-33, 2015.

SILVA, D.R.B; JÚNIOR, P.F.M; SOARES, E.A. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil,** v. 7, n. 2, p. 123-133, 2007.

SIMOPOULOS, A. P. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. **Nutrients***,* v.8, n.128, p.1-17, 2016.

SIMOPOULOS, A. P. Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk. **Experimental Biology and Medicine***,* v.235, n.7, p.785-795, 2010.

SIMOPOULOS, A. P.; DINICOLANTONIO, J. J. The importance of a balanced ω-6 to ω-3 ratio in the prevention and management of obesity. **Open Heart**, v.3, n.2, p.e000385, 2016.

STEER, C.D. et al. Maternal fatty acids in pregnancy, FADS polymorphisms, and child intelligence quotient at 8 y of age. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.98, n.6, p.1575-1582, 2013.

STOFFEL, W. et al. Obesity resistance and deregulation of lipogenesis in Delta6-fatty acid desaturase (FADS2) deficiency. **European Molecular Biology Organization Reports**, v.15, n.1, p.110-120, 2014.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS, TACO / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: NEPAUNICAMP, 2011.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2015. Disponível em https://ndb.nal.usda.gov/.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, Geneva, 2002.

XIE, L.; INNIS, S. M. Genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster are associated with altered (n-6) and (n-3) essential fatty acids in plasma and erythrocyte phospholipids in women during pregnancy and in breast milk during lactation. **The Journal of Nutrition***,* v.138, n.11, p.2222-2228, 2008.

YEATES, A.J. et al. Genetic variation in *FADS* genes is associated with maternal long-chain PUFA status but not with cognitive development of infants in a high fish-eating observational study. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v.102-103, p.13-20, 2015.

ZENG, Z.; LIU, F.; LI, S. Metabolic adaptations in pregnancy: a review. **Annals of Nutrition and Metabolism,** v.70, n.1, p.59-64, 2017.

ZHANG, J.Y.; KOTHAPALLI K.S.D; BRENNA, J.T. Desaturase and elongase limiting endogenous long chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care,** v. 19, n. 2, p. 103-110, 2016.

**ANEXOS**

# ANEXO A

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
((HUCFF/ UFRJ))

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Obesidade materna e biomarcadores moleculares e inflamatórios placentários: estudos de intervenção com óleo de peixe e probióticos

**Pesquisador:** Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 34611513.0.0000.5257

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

**Patrocinador Principal:** FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 836.957

**Data da Relatoria:** 09/10/2014

**Apresentação do Projeto:**

Protocolo 159-14 do grupo III. Respostas recebidas em 20.9.2014

**Objetivo da Pesquisa:**

Vide parecer 764.722 de 21/08/2014

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Vide parecer 764.722 de 21/08/2014

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Vide parecer 764.722 de 21/08/2014

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Vide parecer 764.722 de 21/08/2014

**Recomendações:**

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Foram apresentadas as seguintes pendências e suas respostas

I) Relativamente ao projeto:

**Endereço:** Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
**Telefone:** (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

1. Cronograma: o cronograma prevê o início da seleção de pacientes em 01 de agosto de 2014, portanto antes da aprovação do projeto pelo CEP. solicita-se adequação.

Reposta: O cronograma foi modificado

Análise pendência atendida

2. O projeto lista entre seus critério de inclusão as seguintes características:
(...) (ii) Estar livre de doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus tipo 2; (iii) Estar livre de doenças infecciosas, (iv) Gestar um único feto; (v) Não ser tabagista; (vi) Residir na área adstrita ao estudo.
Peço que seja informado como serão obtidas as informações acima. Por declaração (entrevista)? Nesse caso, chamo atenção para o item II.4 abaixo.

Resposta: AS informações serão obtidas por meio da consulta a prontuário

Análise pendência atendida

3. No projeto, é preciso ficar bem claro, o disposto no item III.2.r. da Res. 466/12: levar em conta, nas pesquisas realizadas em mulheres em idade fértil ou em mulheres grávidas, a avaliação de riscos e benefícios e as eventuais interferências sobre a fertilidade, a gravidez, o embrião ou o feto, o trabalho de parto, o puerpério, a lactação e o recém-nascido. Solicita-se adequação.

Resposta:
Incluímos informações, respaldadas na literatura científica, que estabelecem que a suplementação por óleo de peixe ou pró-bioticos nas quantidades especificadas não imprime prejuízos sobre a fertilidade, a gravidez o embrião ou o feto, o trabalho de parto, a amamentação e o recém -nascido

As informações referidos aos aspectos acima referidos foram revisadas e complementadas e estão apresentadas no corpo do projeto na página 7 terceiro e quarto parágrafos; página 8 primeiro parágrafo e página 11 primeiro parágrafo.

**Endereço:** Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
**Telefone:** (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

Análise: pendência atendida

II) Relativamente ao TCLE:

1. Dado que o TCLE direciona-se à população em geral, é preciso que sua linguagem seja absolutamente clara e compreensível. Nesse sentido, solicito a substituição ou explicação dos seguintes termos: "suplemento", "puerpério", "probiótico", "permanentemente orientada", "Ingestão" (e derivados), "cápsula", "procedimentos de utilização adequada", "hematoma", "perímetro", "aquisição", "descartáveis".

Resposta: as adequações foram incorporadas ao texto do TCLE (...)

Análise: pendência atendida

2. O TCLE afirma: "As participantes voluntárias desse estudo serão divididas em 3 grupos". No entanto, no projeto apresentado lê-se: "Serão constituídos seis grupos: (...)"
Solicita-se esclarecimento.

Resposta: efetuamos o ajuste com relação à divisão das participantes (...)

Análise: pendência atendida

3. O TCLE afirma também: "Serão necessárias também duas pequenas amostras do seu sangue, que serão coletadas no dia que você entrar no estudo e quando completar 36 semanas de gestação; uma amostra de sangue do cordão umbilical e da placenta, que serão coletadas após o parto; uma pequena quantidade de colostro (seu leite nos dois primeiros dias após o parto; 5-10mL) (...)"
Solicito que todas as quantidades coletadas sejam especificadas com o auxílio de "medidas caseiras" ("colheres").

Resposta: Foram incorporados ao texto do TCLE... as especificações das amostras (...) em termos de "medidas caseiras"

Análise: pendência atendida

4. O projeto afirma que também serão obtidas "Informações sociodemográficas, obstétricas e da assistência pré-natal", das quais destaco:
"idade cronológica, situação marital, escolaridade, condições de saneamento da moradia, atividade profissional, renda familiar total, número de pessoas no domicílio, cor da pele (por autoclassificação), número de gestações, partos e a bortos (tipo)"
Devido ao caráter das questões acima solicito que a natureza das informações a serem pesquisadas seja explicitada no TCLE.

Resposta: foi especificado no TCLE (...) a natureza das informações (...)

Análise: pendência atendida

**Situação do Parecer:**
Aprovado
**Necessita Apreciação da CONEP:**
Não
**Considerações Finais a critério do CEP:**
1. De acordo com o item X.1.3.b, da Resolução CNS n.o 466/12, o pesquisador deverá

apresentar relatórios semestrais que permitam ao CEP acompanhar o desenvolvimento dos

projetos.

**Endereço:** Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-46
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
**Telefone:** (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

2. Eventuais emendas (modificações) ao protocolo devem ser apresentadas, com justificativa,

ao CEP, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada.

3 - A pesquisadora apresentou suas "respostas às pend~Encias em arquivo "Imagem" (apesar de extensão .pdf)
Peço à pesquisadora que em projetos futuros apresente as "repostas as pendências em arquivo que possibilite recursos de "cut and paste", de forma a facilitar o trablaho deste CEP

RIO DE JANEIRO, 19 de Outubro de 2014

**Assinado por:**
**Carlos Alberto Guimarães**
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-48
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
**Telefone:** (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

**ANEXO B**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO UFRJ

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Resolução nº 466/2012. Conselho Nacional de Saúde.

Dados de identificação

Título do projeto: **Obesidade materna e biomarcadores moleculares e inflamatórios placentários: estudos de intervenção com óleo de peixe e probióticos**

Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha

Instituição a que pertence o Pesquisador responsável: Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Telefones para contato: (21) 3938-6556 ou (21) 99635-5046 (Profa. Fátima).

Nome da Voluntária: _____

Idade:_____ anos R.G._____

# Termo de Esclarecimento

As informações nesse documento são para você decidir se quer participar deste estudo, que se chama "Obesidade materna e biomarcadores moleculares e inflamatórios placentários: estudos de intervenção com óleo de peixe e probióticos". Nesta pesquisa se pretende avaliar a influência do consumo de óleo de peixe ou de probióticos (micro-organismos benéficos para o corpo humano) sobre a saúde da mãe e do bebê.

As participantes voluntárias desse estudo serão divididas em seis grupos:

Grupo 1: Gestantes que antes da gravidez estavam dentro do peso e que durante a gravidez receberão óleo de peixe

Grupo 2: Gestantes que antes da gravidez estavam dentro do peso e que durante a gravidez receberão probióticos

Grupo 3: Gestantes que antes da gravidez estavam dentro do peso e que durante a gravidez não receberão óleo de peixe nem probióticos

Grupo 4: Gestantes que antes da gravidez estavam acima do peso e que durante a gravidez receberão óleo de peixe

Grupo 5: Gestantes que antes da gravidez estavam acima do peso e que durante a gravidez receberão probióticos

Grupo 6: Gestantes que antes da gravidez estavam acima do peso e que durante a gravidez não receberão óleo de peixe nem probióticos

No primeiro dia do estudo, o pesquisador responsável informará a você qual será seu grupo.

Se você estiver no grupo que receberá óleo de peixe, você terá que tomar uma cápsula (pequena embalagem oval de 1 a 2 cm que pode ser consumida) contendo óleo de peixe 1 vez ao dia, junto à uma refeição até a 36ª semana (final do segundo trimestre) de gestação. Se você estiver no grupo que receberá probiótico, você terá que tomar um 1 sachê (embalagem parecida com um envelope) contendo probiótico, pela manhã, em jejum, até o momento do parto.

Todas as participantes desse estudo serão acompanhadas pelo pesquisador durante a gestação, parto e após o parto. Será realizado um questionário de informações gerais e da sua alimentação. Essas informações incluem idade, estado civil (se você é solteira, casada ou está morando com seu parceiro), escolaridade (a série que você parou de estudar), condições de saneamento da moradia (se sua casa tem esgoto e água tratada), atividade profissional (se você é dona de casa, estudante ou trabalha fora), renda familiar total (quantos salários mínimos a sua família ganha, ao todo), número de pessoas no domicílio (quantas pessoas moram na sua casa), cor da pele (se você classifica sua cor de pele em branca, negra ou parda), número de gestações (quantas vezes você já ficou grávida), partos (quantas vezes você já entrou em trabalho de parto) e abortos (se você já sofreu algum aborto e qual foi o tipo de aborto), dentre outras. Elas serão importantes para que o grupo de pesquisa possa melhor conhecer a sua história de vida. Para preencher esse questionário, será necessário consultar o seu prontuário e seu cartão de pré-natal. Durante as consultas de pré-natal na Maternidade Escola será medida a sua altura, peso e circunferência da cintura.

Serão necessárias também duas pequenas amostras do seu sangue (em quantidade igual a 5 mL, ou 1 colher de chá, de sangue, para cada amostra), que serão coletadas no

dia que você entrar no estudo e quando completar 36 semanas de gestação; uma amostra de sangue do cordão umbilical (em quantidade igual a 1 colher de chá de sangue, que são 5mL) e da placenta (em quantidade igual a 2 colheres de sopa, que são 30mL), que serão coletadas após o parto; uma pequena quantidade de colostro (seu leite nos dois primeiros dias após o parto, na quantidade de mais ou menos 1 colher de sopa que são 5-10mL), que será coletado durante o período de internação, logo após o parto, e de leite maduro, coletado aos 20 dias, 2 e 3 meses após o parto, na mesma quantidade que o colostro, em datas previamente agendadas, no consultório ou ambulatório da ME.

**Riscos e benefícios relacionados à sua participação no estudo:**

Tomar o óleo de peixe assim como do probiótico, durante a gestação, não traz riscos à sua saúde, nem para a saúde do seu bebê, desde que a você siga as orientações dos pesquisadores. Pode acontecer um pequeno desconforto ao tomar o óleo de peixe (você pode sentir um leve gosto de peixe na boca após o consumo). Para evitar tal sintoma, pedimos que você siga corretamente as instruções de uso dadas pelo pesquisador que irá acompanhá-la (você será acompanhada por um pesquisador no pré-natal e poderá sempre perguntar e tirar suas dúvidas sobre como tomar as cápsulas com óleo de peixe ou sachê com probiótico).

Os desconfortos com a retirada de sangue, como a formação de hematoma (pequena mancha roxa e dolorida) e o risco de pegar uma doença serão mínimos, pois toda a coleta de sangue será realizada por pessoal qualificado devidamente treinado, com limpeza e higiene, seguindo todas as normas de segurança. O material utilizado na coleta das amostras de sangue, placenta e leite será novo, utilizado apenas para você e depois jogado fora.

Não será retirado nenhum material de seu filho, o grupo de pesquisa vai precisar apenas de informações sobre o peso, comprimento e perímetro (tamanho/circunferência) da cabeça ao nascer, aos 20 dias, 2 e 3 meses após o parto. Essas informações serão vistas no prontuário médico da unidade de saúde e/ou cartão da criança.

Os benefícios associados ao estudo só poderão ser totalmente avaliados ao final de sua realização, no entanto, se espera a redução da inflamação na mãe e, com isso, uma

melhor quantidade de nutrientes do leite materno, com vantagens para a saúde do recém-nascido.

Todo material e informações coletadas serão utilizados apenas para esta pesquisa, e as suas informações pessoais não serão divulgadas, pois, os resultados do estudo serão apresentados na forma de tabelas e gráficos, não sendo possível a identificação das participantes. Os dados científicos resultantes da pesquisa poderão ser apresentados em congressos e publicados em revistas científicas, mas sem a identificação dos participantes.

Os seus exames e o seu prontuário somente serão avaliados pelos pesquisadores deste estudo e pelos profissionais que farão o seu atendimento e que estarão cuidando da sua saúde, não sendo permitido que outras pessoas vejam seus resultados. Você poderá em qualquer momento do estudo, pedir informações e também se atualizar quanto aos resultados parciais da pesquisa.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso ao coordenador da pesquisa que poderá ser encontrado nos telefones: (21) 3938-6556 (Profas. Fátima, Tatiana e Ana), (21) 98105-4499 (Profa. Eliane) ou (21) 99882-8307 (Profa. Márcia). Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) situado à Rua Rodolpho Paulo Rocco, 255 - Cidade Universitária - Ilha do Fundão - Rio de Janeiro – RJ. Tel: (21) 3938-2789. E-mail: cep@hucff.ufrj.br.

É garantida a liberdade de querer não participar do projeto de pesquisa ou de retirar o consentimento (deixar de participar) a qualquer momento, no caso da aceitação, sem qualquer prejuízo apo andamento do seu tratamento na instituição. Esta pesquisa não lhe trará nenhum custo, ou seja, você não pagará pelos exames e pelas demais avaliações. O óleo de peixe ou probióticos serão doados pelos pesquisadores da equipe. Também não terá benefícios financeiros relacionados à sua participação durante e ao final do estudo.

Caso ocorra algum dano pessoal resultante do estudo a Sra. terá direito ao atendimento pelos pesquisadores ou encaminhamento na Instituição.

Você receberá uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que contém a explicação do que será feito na pesquisa e os contatos dos pesquisadores.

## Termo de Consentimento

Acredito ter sido informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com um dos membros do estudo "Obesidade materna e biomarcadores moleculares e inflamatórios placentários: estudos de intervenção com óleo de peixe e probióticos", coordenado pela profª Drª Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, as etapas a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação não gera despesas para mim e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu (ou meu representante legal) e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na ultima folha.

Data: ____/____/____

_____

Nome do Sujeito da Pesquisa

_____

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Data: ____/____/____

_____

Nome do Pesquisador Responsável

_____

Assinatura do Pesquisador Responsável

**ANEXO C**

**Participante:**

**Obesidade materna e biomarcadores moleculares e inflamatórios placentários: estudos de intervenção com óleo de peixe e probióticos**

**PROTOCOLO DE PESQUISA 1: Informações coletadas no primeiro encontro com a gestante**

Nome: _____ Data: ____/____/_____

Entrevistador: _____ Prontuário nº:_____

Endereço: _____

Telefone fixo: _____

Celular/whatsapp: _____

e-mail: _____

Melhor dia e horário para contato: _____

Dia da semana/turno do PN: _____ Médico do PN:_____

Idade_____ anos Data de nascimento ____/____/____

Peso pré-gestacional:_____kg Altura:_____ m

IMC pré-gestacional:_____kg/m²

Classificação do IMC pré-gestacional: a.( ) Eutrofia b.( ) Obesidade grau I c.( ) Obesidade grau II

DUM ____/_____/_____

Idade gestacional na 1ª consulta _____(DUM/USG)

Intercorrências gestacionais: _____

_____

_____

DPP: ___/____/_____ entre ___/____/_____ e ____/____/____

Tipo de parto previsto: a. ( ) vaginal b. ( ) cirúrgico Indicação:_____

_____

_____

_____

_____

_____

**Participante:**

**<u>Dados Coletados Durante Acolhimento</u> (Marcar informações pendentes para perguntar na entrevista)**

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone fixo: _____Celular:_____

Idade: _____ anos **(19 a 35 anos)** Peso Pré gestacional **(atual)**: _____ kg

Altura: _____ m

IMC pré-gestacional:_____ kg/m$^2$ Classificação: _____ DUM: _____

IG: _____ Nº Gestações anteriores: _____ Nº Partos: _____ Nº Abortos: _____

Você já teve alguma dessas doenças diagnosticada por um médico?

a. Alergias ( ) sim ( ) não A quê?_____ **(se frutos do mar, não sortear GOOP)**

b. Hipertensão ( ) sim **(excluir)** ( ) não

c. Diabetes Mellitus ( ) sim **(excluir)** ( ) não

d. Tireoideopatias ( ) sim **(excluir)** ( ) não

e. Neuropatias ( ) sim ( ) não

f. Ginecopatias ( )sim**(se atual, excluir)** ( ) não

g. Doenças cardíacas ( ) sim **(excluir)** ( ) não

h. Doenças Respiratórias ( ) sim ( ) não

i. Cirrose ou hepatite crônica ( ) sim **(excluir)** ( ) não

j. Dislipidemia ( ) sim ( ) não

k. Insuficiência renal crônica ( ) sim **(excluir)** ( ) não

l. Outros: _____

Existe algo que queira acrescentar que eu ainda não tenha falado?

_____

Você fuma atualmente? a. ( ) Sim b.( ) Não **(Se sim)** Quanto? _____

Já fumou alguma vez? a.( ) sim b.( ) não

Há quanto tempo parou? _____ (transformar a informação em dias)

Com que frequência consome bebida alcoólica? _____

**(Enquanto abre protuário: explicação breve do estudo + terminar perguntas sobre critérios de inclusão)**

**<u>Dados Coletados em Entrevista</u>**

Você faz uso de algum suplemento? a.( ) sim **(Se ômega-3 ou probiótico, excluir)** b.( ) não

Qual?_____ Qual dosagem? _____

Você faz uso de algum medicamento? a.( ) sim b.( ) não

Qual? _____ Qual dosagem? _____

Você está em jejum no momento? a. ( ) sim b. ( ) não

**( ) APTA ( ) NÃO APTA**

**Participante:**

1. **Encaminhar para coleta de sangue + Anexar papel do estudo ao Pedido de Exame**
2. **Na sala da Nutrição: Explicação maior do estudo + Assinatura do TCLE (02 vias)**
3. **Fornecer Kit lanche/imã + Terminar entrevista do Protocolo 1**
4. **Sortear os grupos. Se for GOOP ou GOPro, explicar esquema de suplementação, fornecer as cápsulas e dar formulário de controle da suplementação**
5. **Anotar código/nome da gestante nos protocolos e no mapa de divisão das participantes do estudo + Colocar logo do estudo no cartão e prontuário**
6. **Após acolhimento, anotar na agenda do estudo dia do PN e médico responsável no protocolo 1**

**I- Dados pessoais e condições socioeconômica:**
Qual seu telefone de casa?_____
Celular e whatsapp?_____
Você tem e-mail? _____
Qual o melhor dia da semana e horário para entrar em contato com você?_____
Tem algum outro contato? **(Incluir nome e parentesco)**_____

1. A senhora é **(ler as opções)**
a.( ) solteira b.( ) casada/ juntada c.( ) viúva

2. Como a senhora se considera? **(Ler as opções)**
a.( ) branca b.( ) preta c.( ) parda d.( ) amarela e.( ) indígena

3. A senhora estuda atualmente?
a.( ) sim **(siga para questão 3.1.)** b.( ) não **(siga para questão 4)**
3.1. **(Ler as opções e, depois, siga para questão 5)**
a.( ) ensino fundamental b.( ) ensino médio c.( ) curso técnico d.( ) universidade e.( ) pós-graduação

4. Já estudou?
a.( ) sim **(siga para questão 4.1)** b.( ) não **(siga para questão 5)**
4.1. Em que série parou de estudar?_____

5. **(Se responder casada/juntada na pergunta 1)** E seu companheiro (a)? Já estudou?
a.( ) sim **(siga para questão 5.1)** b.( ) não **(siga para questão 6)**
5.1. Em que série parou de estudar?_____

6. A senhora trabalha atualmente?
a.( ) sim **(siga para questão 6.1)** b.( ) não **(siga para questão 7)**
6.1. Em que?: _____

7. Juntando todas as pessoas que moram com você, qual a renda do mês? _____

8. Quantas pessoas moram na casa, inclusive crianças? _____

**Participante:**

9. Você desejou ficar grávida? a.( ) sim b.( ) não

10. As pessoas da sua casa apoiam a sua gestação? a.( ) sim b.( ) não c. ( ) em parte

**II - Hábitos de vida**

11. Você faz alguma atividade física? a.( ) sim **(siga para questão 11.1)** b.( ) não **(siga para questão 12)**

11.1. Qual? _____ 11.2. Em qual freqüência? _____

12. Quantos copos de água você consome por dia, em média? _____

13. Você tem tido diarréia, sente prisão de ventre ou vai ao banheiro normalmente?
a. ( ) diarréia b. ( ) constipação c. ( ) regular

**III - Amamentação**

17. Você já amamentou? a.( ) sim b.( ) não

18. Pretende amamentar exclusivamente? a.( ) sim b.( ) não **(siga para questão 18.1.)**

18.1. Por que? _____

**<u>Dados Coletados em Prontuário</u>**

Naturalidade: _____ Menarca:_____ Sexarca:_____
Idade ginecológica: _____ anos Intervalo interpartal: _____

Histórico de intercorrências maternas em gestações anteriores:
a.( ) Pré-eclâmpsia ou DHEG b.( ) Intolerância à glicose c.( ) Diabetes Mellitus
Outras:_____

Histórico de gestações anteriores:
a. Natimortos:_____ b. Neomortos:_____ c. Abortos provocados: _____ d. Abortos espontâneos: _____

Histórico de intercorrências fetais em gestações anteriores:
a.( ) malformação b.( ) nasceu com menos de 2500g c.( ) hipoglicemia d.( ) nasceu com menos de 37 semanas e.( ) icterícia f.( ) problemas de coração g.( ) nenhum filho teve intercorrência ao nascer h.( )
Outras:_____

Antecedentes familiares:
a. ( ) sífilis b. ( ) câncer ginecológico c. ( ) diabetes d. ( ) tuberculose e. ( ) hipertensão
f. ( ) anomalias congênitas g. ( ) doença tromboembólica h. ( ) macrossomia i. ( ) prematuridade
j. ( ) aborto habitual l. ( ) morte fetal m. ( ) pré-eclâmpsia/eclâmpsia
n. ( ) outros: _____