



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

KARINA DOS SANTOS

**INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NOS GENES FTO E ADRB2 NO EFEITO
DA DIETA DASH VERSUS DIETA TRADICIONAL SOBRE O
GANHO DE PESO GESTACIONAL, PRESSÃO ARTERIAL SISTêmICA E
SÍNDROMES HIPERTENSIVAS DA GESTAÇÃO EM GESTANTES COM
DIABETES MELLITUS PRé-EXISTENTE**

RIO DE JANEIRO

2022

Karina dos Santos

Influência de polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente

Tese 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 Doutora em Ciências Nutricionais.

Orientadoras:

Profa. Dra. Cláudia Saunders

Profa. Dra. Eliane Lopes Rosado

Rio de Janeiro

2022

Santos, Karina dos.

Influência de polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente. / Karina dos Santos. – Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Nutrição Josué de Castro, 2022.

161 f.: il.; 31 cm.

Orientadoras: Cláudia Saunders e Eliane Lopes Rosado.

Tese (doutorado) – UFRJ / Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Programa de pós-graduação em Nutrição, 2022.

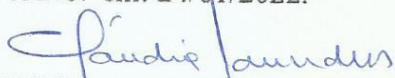
Referências: f. 133-141.

Karina dos Santos

**INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS NOS GENES FTO E ADRB2 NO EFEITO DA
DIETA DASH VERSUS DIETA TRADICIONAL SOBRE O GANHO DE PESO
GESTACIONAL, PRESSÃO ARTERIAL SISTêmICA E SÍNDROMES
HIPERTENSIVAS DA GESTAÇÃO EM GESTANTES COM DIABETES MELLITUS
PRé-EXISTENTE**

Tese 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 Doutora em Ciências Nutricionais.

Aprovada com louvor em: 24/01/2022.



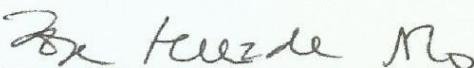
Profª. Cláudia Saunders, Doutora em Saúde Pública, UFRJ



Profª. Dayana Rodrigues Farias, Doutora em Ciências Nutricionais, UFRJ



Profª. Beatriz Gonçalves Ribeiro, Doutora em Nutrição Humana Aplicada, UFRJ



Prof. Jorge Fonte de Rezende Filho, Doutor em Medicina Clínica Obstétrica, UFRJ

Prof. José Alfredo Martínez Hernández, Doutor em Farmácia, IMDEA Alimentación

Profª. Elisa Oliveira Braga Keating, Doutora em Biologia Humana, Universidade do Porto

Rio de Janeiro

Janeiro, 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha orientadora - Profª. Cláudia Saunders, pelo apoio incondicional em todas as fases deste trabalho. Não existem palavras suficientes para este agradecimento, nossa parceria profissional e nossa amizade são preciosas. Obrigada por tudo, para sempre serás a minha inspiração como professora e pesquisadora; eternamente serei grata a ti.

À minha coorientadora - Profª. Eliane Lopes Rosado, por ter oportunizado a realização do meu sonho de estudar nutrigenética, acreditando no potencial deste projeto. Muito, muito obrigada por compartilhar comigo o teu conhecimento e por ser exemplo de dedicação à profissão.

Ao meu orientador no período de capacitação no exterior, Prof. Alfredo Martínez, por quem tenho profunda admiração há muito tempo, que me recebeu tão amavelmente no IMDEA *Alimentación* e trouxe muitas contribuições para este trabalho. ¡*Muchísimas gracias!*

À equipe de pesquisadores do Laboratório de Genética Humana da FIOCRUZ, pela parceria na realização deste projeto. Especialmente, à minha super parceira e amiga, Dra. Ana Carolina Proença da Fonseca, que me ensinou todos os protocolos dos ensaios de nutrigenética, passo a passo, e jamais mediou esforços para me ajudar. Carol, muito obrigada!

Às minhas colegas e amigas do Grupo de Pesquisa em Saúde Materna e Infantil (GPSMI). Sou tão grata por tê-las ao meu lado, sempre amáveis, prestativas e competentes. Que tenhamos muitos novos projetos e desafios, juntas somos mais fortes!

À Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela formação de excelência na pós-graduação. Especialmente, à Maternidade Escola da UFRJ por oportunizar o desenvolvimento deste projeto e acreditar na importância da pesquisa em Nutrição aliada à prática assistencial. É um orgulho fazer parte desta construção. Agradeço também a todas as mulheres que participaram do projeto, nosso trabalho é para vocês.

Agradeço à Profª. Dayana Rodrigues Farias por ter aceitado ser revisora da tese, e aos demais professores que aceitaram compor a banca avaliadora: Profª. Beatriz Gonçalves Ribeiro, Prof. Jorge Fonte de Rezende Filho, Prof. José Alfredo Martínez Hernández, Profª. Elisa Oliveira Braga Keating, Profa. Marcia Soares da Mota e Silva Lopes e Prof. Marcos Augusto Bastos Dias.

Por fim, mas no topo de todo o meu amor, agradeço à minha família e aos meus amigos, que são base sólida, força, impulso, motivação. Especialmente ao meu marido - Márcio Bolognese Fernandes – que sempre me apoiou e incentivou em cada etapa da vida, e não hesitou (nem por um segundo) em embarcar comigo para o Rio de Janeiro em busca do meu sonho acadêmico. Vencemos!

À minha mãe e ao meu padrasto (Fátima e Eduardo), por me oferecerem a segurança necessária para realizar meus sonhos e pelos olhares de amor orgulhoso que lançam sobre mim, fazendo tudo valer a pena.

Aos tios Ana Maria Bolognese e Hugo Mazzochi, por terem me recebido em sua casa, me acolhido com tanto zelo, por terem me incentivado muito e por serem pessoas de generosidade rara.

A conquista de hoje é nossa, porque não existe “eu” sem vocês.

*Santo anjo do Senhor, meu zeloso guardador,
Se a ti me confiou, a piedade divina,
Sempre me rege, me guarda, me governa, me ilumina,
Amém! Obrigada, Deus!*

Com carinho, Karina Santos
Rio de Janeiro, 13/01/2022

*“If I have seen further,
it is by standing on the shoulders of giants”*

Isaac Newton

RESUMO

dos Santos, Karina. Influência de polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente. Rio de Janeiro, 2022. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) - Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Introdução: Polimorfismos genéticos podem modificar o efeito da dieta sobre resultados obstétricos e perinatais. **Objetivo:** Avaliar a influência de polimorfismos nos genes FTO (rs9939609 / rs17817449) e ADRB2 (rs1042713 / rs1042714) no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional (GPG), pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação (SHG) em gestantes com diabetes mellitus (DM) pré-existente. **Métodos:** Ensaio clínico randomizado, realizado no Rio de Janeiro/Brasil. As participantes foram randomizadas para um dos grupos de estudo: dieta tradicional (n=41) ou dieta DASH (n=29), antes de 28 semanas de gestação, acompanhadas até o parto. As medidas de peso e pressão arterial sistólica e diastólica foram realizadas nas consultas de pré-natal, ao longo da gestação. O GPG foi definido como (peso na internação para o parto - peso pré-gestacional) e o GPG excessivo como ganho de peso total superior ao limite máximo da recomendação para cada categoria de IMC pré-gestacional (peso pré-gestacional/estatura²), conforme recomendações do *Institute of Medicine*. As SHG foram diagnosticadas de acordo com os critérios do *American College of Obstetricians and Gynecologists*. A genotipagem foi realizada utilizando DNA extraído de células bucais, por meio de PCR em tempo real. Foram realizadas análises de comparação de medianas e frequências, modelos de regressão linear de efeito misto para a trajetória da pressão arterial e análises de tempo-até-o-evento para os desfechos GPG excessivo e SHG. **Resultados:** As participantes tinham mediana de 32 anos de idade (IQR 25,7-36,0); 28,6% das mulheres tinham IMC pré-gestacional adequado, 35,7% sobrepeso e 35,7% obesidade. As medianas do GPG foram 13,7 kg (IQR 11,5 – 17,5), 11,8 kg (IQR 7,5 – 16,4) e 11,0 (IQR 5,9 – 14,1), respectivamente, sem diferença significativa entre os grupos de dieta e genótipos. A incidência de GPG excessivo foi de 52,9%, sem efeito da dieta DASH sobre o risco de progressão, em relação à dieta tradicional (aHR 1,32, IC 95% 0,62;2,79, p = 0,46). Houve influência dos polimorfismos rs9939609 (FTO) e rs1042713 (ADRB2) no risco de progressão para o GPG excessivo: AT *vs.* TT (aHR 2,44, IC 95% 1,03;5,78, p = 0,04); AT/AA *vs.* TT (aHR 2,55, IC 95% 1,14;5,69, p = 0,02) e AA *vs.* GG

(aHR 3,91, IC 95% 1,12;13,70, p = 0,03); AG/AA *vs.* GG (aHR 2,37, IC 95% 1,01;5,52, p = 0,04), respectivamente, e do haplótipo rs9939609:rs17817449 (AG) (aHR 1,79, IC 95% 1,04;3,06, p = 0,02), independentemente do tipo de dieta. Não houve efeito estatisticamente significativo da dieta, dos genótipos ou da interação gene-dieta sobre a trajetória da pressão arterial. A incidência de SHG foi de 22,9%, sem efeito da dieta DASH sobre o risco de progressão, em relação à dieta tradicional (aHR 0,81, IC 95% 0,25;2,61, p = 0,72). Não houve efeito significativo dos genótipos em relação ao desenvolvimento de SHG. **Conclusão:** Polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 não modificaram o efeito da dieta DASH *vs.* dieta tradicional sobre os desfechos estudados, mas foram fatores de risco para exceder precocemente o GPG, independentemente da dieta.

Palavras-chave: Dieta DASH; Diabetes Mellitus; Gestação de Alto Risco; Hipertensão Gestacional; Pré-Eclâmpsia; Ganho de Peso Gestacional.

ABSTRACT

dos Santos, Karina. Influência de polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente. Rio de Janeiro, 2022. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) - Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Introduction: Genetic polymorphisms may modify the effect of diet on obstetric and perinatal outcomes. **Aim:** To evaluate the influence of genetic polymorphisms in the FTO (rs9939609 / rs17817449) and ADRB2 (rs1042713 / rs1042714) genes on the effect of DASH diet *versus* traditional diet on gestational weight gain (GWG), systemic blood pressure, and hypertensive disorders of pregnancy (HDP) in pregnant women with pregestational diabetes mellitus (DM). **Methods:** Randomized clinical trial, carried out in Rio de Janeiro/Brazil. The participants were randomized to one of the study groups: traditional diet (n=41) or DASH diet (n=29), before 28 weeks of pregnancy, followed until the childbirth. Body weight and blood pressure measures were performed in the prenatal visits, during all pregnancy. GWG was defined as (weight in the admission to the childbirth - pre-pregnancy weight) and the excessive GWG as the total GWG above the upper limit of the recommendation according to pre-pregnancy BMI (pre-pregnancy weight/heigh²), considering the Institute of Medicine guidelines. The HDP diagnoses followed the *American College of Obstetricians and Gynecologists* criteria. DNA samples were extracted from buccal cells and genotyped by real time PCR. Comparisons of medians and frequencies, linear mixed-effect models for blood pressure trajectory, and time-to-event analyses for the outcomes excessive GWG and HDP were performed. **Results:** The median of age was 32 years (IQR 25.7-36.0); 28.6% of the participants had normal pre-pregnancy BMI, 35.7% overweight, and 35.7% obesity. The medians of GWG were 13.7 kg (IQR 11.5-17.5), 11.8 kg (IQR 7.5-16.4) e 11.0 (IQR 5.9-14.1), respectively, with no difference between the diet groups and genotypes. The incidence of GWG was 52.9%, with no effect of DASH diet on the risk of progression, compared to the traditional diet (aHR 1.32, CI 95% 0.62;2.79, p = 0.46). The polymorphisms rs9939609 (FTO) and rs1042713 (ADRB2) influenced the risk of progression to excessive GWG: AT vs. TT (aHR 2.44, CI 95% 1.03;5.78, p = 0.04); AT/AA vs. TT (aHR 2.55, CI 95% 1.14;5.69, p = 0.02) e AA vs. GG (aHR 3.91, CI 95% 1.12;13.70, p = 0.03); AG/AA vs. GG (aHR 2.37, CI 95% 1.01;5.52, p = 0.04), respectively, and the haplotype rs9939609:rs17817449 (AG) (aHR

1.79, CI 95% 1.04;3.06, $p = 0.02$), regardless the type of diet. There was no statistically significative effect of diet, genotypes nor gene-diet interaction on the blood pressure trajectory. The incidence of HDP was 22.9%, with no effect of DASH diet on the risk of progression, compared to the traditional diet (aHR 0.81, CI 95% 0.25;2.61, $p = 0.72$). There was no significant effect of the genotypes on the development of HDP. **Conclusion:** Polymorphisms in the FTO and ADRB2 genes had no influence on the effect of DASH diet vs. traditional diet on the evaluated outcomes, but were risk factors for earlier exceeding GWG, regardless the type of diet.

Keywords: DASH Diet; Diabetes Mellitus; High-Risk Pregnancy; Gestational Hypertension; Pre-Eclampsia; Gestational Weight Gain.

LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Critérios propostos para diagnóstico de diabetes mellitus na gestação	20
Quadro 2 - Recomendações de ganho de peso gestacional semanal e total, conforme o IMC pré-gestacional	21
Quadro 3 - Condições que caracterizam a pré-eclâmpsia	25
Quadro 4 - Evidências do efeito da dieta DASH sobre desfechos obstétricos e perinatais	28
Quadro 5 - Síntese dos estudos que investigaram a relação do polimorfismo rs9939609 no gene FTO com IMC pré-gestacional e ganho de peso gestacional	34
Quadro 6 - Efeito da restrição dietética de sódio conforme os genótipos do gene ADRB2	38
Quadro 7 - Efeito da dieta DASH sobre a pressão arterial sistólica, conforme os genótipos do gene ADRB2	39
Quadro 8 - Estimativa do Valor Energético Total (VET) para elaboração do plano alimentar ...	46
Quadro 9 - Características da Dieta Tradicional e da Dieta DASH, considerando plano alimentar de 2100 kcal diárias	47
Quadro 10 - Variáveis estudadas	51

Manuscrito 1: FTO and ADRB2 genetic polymorphisms are risk factors for earlier excessive gestational weight gain in pregnant women with pregestational diabetes mellitus: Results of a randomized nutrigenetic trial

Chart 1 - Daily composition of the diets used in the study	77
Table 1 – Characteristics of the participants at baseline (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	78
Table 2 – Genetic background of the participants for FTO and ADRB2 polymorphisms (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	79
Table 3 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), analyzing diet groups and general characteristics of the participants (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	80
Table 4 – Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), stratified by the FTO polymorphisms rs9939609 and rs17817449 (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	82
Table 5 – Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), stratified by the ADRB2 polymorphisms rs1042713 and rs1042714 (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	83
Table 6 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), analyzing the haplotypes ADRB2 rs1042713:rs1042714 and FTO rs9939609:rs17817449 (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	84
Supplementary table 1 – Comparison of the gestational weight gain (kg) between diet groups, according to the pregestational BMI (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	85
Figure 1- Flowchart of the study	86
Supplementary Figure 1 – Gestational weight gain according to genotypes and dietary patterns	87
Graphical Abstract	88

Manuscrito 2: Dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of hypertensive disorders of pregnancy in women with pregestational diabetes: a randomized controlled clinical trial

Chart 1 - Daily composition of the diets used in the study	110
Table 1 – Characteristics of the study participants at baseline according to the diet groups	111
Table 2 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to development of HDP), analyzing dietetic and phenotypic characteristics	113
Table 3 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to development of HDP), analyzing genotypic characteristics: FTO and ADRB2 polymorphisms (rs9939609, rs17817449, rs1042713, and rs1042714)	115
Table 4 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to development of HDP), analyzing the haplotypes ADRB2 rs1042713:rs1042714 and FTO rs9939609:rs17817449	116
Supplementary Table 1 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy in the diet groups	117
Supplementary Table 2 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs9939609 FTO genotype (A allele carriers vs. non-carriers) and interaction with diet	118
Supplementary Table 3 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs17817449 FTO genotype (G allele carriers vs. non-carriers) and interaction with diet	119
Supplementary Table 4 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs1042713 ADRB2 genotype (A allele carriers vs. non-carriers) and interaction with diet	120
Supplementary Table 5 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs1042714 ADRB2 genotype (G allele carriers vs. non-carriers) and interaction with diet	121
Figure 1- Flowchart of the study	122
Figure 2 – Trajectory of systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) during pregnancy in the traditional diet (TD) and the DASH diet (DD) groups	123

Manuscrito 3: Pregestational BMI in Brazilian women with diabetes mellitus according to polymorphisms in FTO and ADRB2 genes: a brief communication

Table 1 – FTO and ADRB2 genotype frequencies and comparison of pregestational BMI in pregnant women with pregestational diabetes (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020)	129
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACOG – *American College of Obstetricians and Gynecologists*

ADA – *American Diabetes Association*

ADRB2 – *adrenoceptor Beta 2 gene*

AG – ácidos graxos

CFN – Conselho Federal de Nutricionistas

COVID-19 – *Coronavirus disease 19*

DASDIA - *DASH diet for pregnant women with DIAbetes*

DASH – *dietary approach to stop hypertension*

DATASUS – Banco de dados no Ministério da Saúde do Brasil

DM – diabetes mellitus

DM1 – diabetes mellitus tipo 1

DM2 – diabetes mellitus tipo 2

DMG – diabetes mellitus gestacional

DNA – ácido desoxirribonucleico

FEBRASGO - Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia

FTO – *fat mass and obesity-associated gene*

GC – grupo controle (dieta tradicional)

GD – grupo DASH (dieta DASH)

GIG – grande para a idade gestacional

PGP – ganho de peso gestacional

GPSMI – Grupo de Pesquisa em Saúde Materna e Infantil

HAPO - *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes*

HAS – hipertensão arterial sistêmica

HbA1c – hemoglobina glicada

HDL-c - *high density lipoprotein*

HOMA-IR - *homeostatic model assessment - insulin resistance*

HR – *hazard ratio*

IADPSG - *International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group*

IC – intervalo de confiança

IDF – *International Diabetes Federation*

IMC – índice de massa corporal

INJC – Instituto de Nutrição Josué de Castro

IOM – *Institute of Medicine*

IPAQ – *International Physical Activity Questionnaire*

ISSHP - *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*

LDL-c - *low density lipoprotein*

MS – Ministério da Saúde

NAF – nível de atividade física

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPAS – Organização Pan-americana da Saúde

OR – *odds ratio*

PAD – pressão arterial diastólica

PAM – pressão arterial média

PAS – pressão arterial sistólica

PCR – *polymerase chain reaction*

PE – pré-eclâmpsia

PIG – pequeno para a idade gestacional

RNA – ácido ribonucleico

SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes

SHG – síndromes hipertensivas da gestação

SISREG - Sistema de Centrais de Regulação

SNP – *single nucleotide polymorphism*

SRAA – sistema renina angiotensina aldosterona

SUS – Sistema Único de Saúde

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TMB – taxa metabólica basal

TOTG – teste oral de tolerância à glicose

TSH – hormônio tireoestimulante

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

USDA – *United States Department of Agriculture*

VET – valor energético total

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Diabetes mellitus (DM) na gestação	18
2.1.1 Ganho de peso gestacional em mulheres com DM pré-existente	21
2.1.2 Síndromes hipertensivas da gestação em mulheres com DM pré-existente	23
2.2 Terapia nutricional para manejo do DM na gestação: potencial da dieta DASH	26
2.3 Nutrigenética na gestação	32
2.3.1 Polimorfismos no gene FTO	33
2.3.2 Polimorfismos no gene ADRB2	36
3. JUSTIFICATIVA	40
4. HIPÓTESE	41
5. OBJETIVOS	42
5.1 Objetivo geral	42
5.2 Objetivos específicos	42
6. MÉTODOS	43
6.1 Delineamento e local do estudo	43
6.2 População e amostra	43
6.3 Grupos de estudo e coleta de dados	44
6.4 Avaliação antropométrica e ganho de peso gestacional	45
6.5 Intervenção dietética	45
6.6 Adesão aos planos alimentares	48
6.7 Avaliação da pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação	49
6.8 Coleta de material biológico e análise genética	49
7. ANÁLISES DOS DADOS	51
7.1 Variáveis estudadas	51
7.2 Análises estatísticas	52
8. QUESTÕES ÉTICAS	55
9. RESULTADOS	56
Manuscrito 1: FTO and ADRB2 genetic polymorphisms are risk factors for earlier excessive gestational weight gain in pregnant women with pregestational diabetes mellitus: Results of a randomized nutrigenetic trial	57
Manuscrito 2: Dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of hypertensive disorders of pregnancy in women with pregestational diabetes: a randomized controlled clinical trial	89
Manuscrito 3: Pregestational BMI in Brazilian women with diabetes mellitus according to polymorphisms in FTO and ADRB2 genes: a brief communication	124
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS	131
REFERÊNCIAS	133
APÊNDICES	142
ANEXOS	157

1 INTRODUÇÃO

O cuidado nutricional na gestação tem papel central para melhoria dos indicadores de saúde materna e infantil. As modificações fisiológicas que ocorrem no organismo materno são fundamentais para o curso da gestação, desde a concepção até o parto. A dieta e o estado nutricional da gestante atuam como fatores determinantes para o sucesso das adaptações, que visam ao desenvolvimento embrionário-fetal, preservando a saúde materna (INSTITUTE OF MEDICINE - IOM, 2020). As disfunções metabólicas do diabetes mellitus (DM) podem comprometer os ajustes fisiológicos esperados no organismo materno, elevando o risco para desfechos adversos, com expressivo impacto na morbidade e mortalidade materno-infantil (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION - ADA, 2021).

Gestantes com DM pré-existente encontram-se em risco elevado para o desenvolvimento das síndromes hipertensivas da gestação (SHG), principal causa de mortalidade materna no Brasil nos últimos anos (BRASIL, DATASUS, *online*). A pré-eclâmpsia (PE), SHG responsável pela maior parte das mortes, é caracterizada por hipertensão arterial sistêmica (HAS) acompanhada de proteinúria e/ou outras disfunções orgânicas a partir de 20 semanas de gestação (AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS - ACOG, 2020). Sua etiologia não está totalmente elucidada, mas envolve fatores genéticos e ambientais, com uma falha no processo de adaptação hemodinâmica da gestação que compromete o adequado suprimento fetal de nutrientes e oxigênio e a regulação dos níveis pressóricos maternos (DOHERTY et al., 2020). As mulheres com DM têm duas a quatro vezes maior risco de desenvolver PE, em comparação às mulheres sem DM (WEISSGERBER; MUDD, 2015).

O número de gestações afetadas pelo DM cresce paralelamente à prevalência de obesidade (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION - IDF, 2021). O excesso de peso materno também é considerado um fator de risco para SHG, bem como para outros desfechos adversos não só na gestação, mas em longo prazo, com pior prognóstico de saúde futura para a mulher e a criança. As recomendações de ganho de peso gestacional (GPG) consideram o índice de massa corporal (IMC) pré-gestacional, de forma que o GPG recomendado é menor para as mulheres com excesso de peso em relação às mulheres com peso adequado (IOM, 2009).

Em uma coorte com mais de oito mil mulheres brasileiras saudáveis, o percentual de GPG acima da recomendação foi de aproximadamente 40%; maior entre mulheres com sobrepeso e obesidade (56,4% e 46,2%), comparadas às mulheres com baixo peso e peso

adequado (30,1% e 30,7%), respectivamente (BRANDÃO et al., 2021). Em todo o mundo, cerca de 50% das mulheres apresentam GPG excessivo, em relação às recomendações (GOLDSTEIN et al., 2017).

A importância da adoção de uma alimentação saudável na gestação para a saúde materna e infantil é bem estabelecida e largamente preconizada (MATE et al., 2021). A dieta DASH (*Dietary Approach to Stop Hypertension*) é o principal tratamento dietético para HAS. Nesse padrão dietético é estimulado o consumo de frutas, hortaliças, cereais integrais, sementes, oleaginosas e laticínios com baixo teor de gordura. A dieta DASH prioriza o consumo de carnes brancas em detrimento das vermelhas e limita o consumo de alimentos com adição excessiva de sal e açúcar (SACKS et al., 1995). Em 2013/2014, um grupo de pesquisadores iranianos demonstrou efeitos benéficos da dieta DASH em gestantes com DM gestacional para melhor controle metabólico (ASEMI et al, 2013a; 2013b; 2014).

Com esta motivação, o Grupo de Pesquisa em Saúde Materna e Infantil do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro (GPSMI/INJC/UFRJ) iniciou a investigação acerca do possível efeito da dieta DASH para redução de desfechos adversos em gestantes com DM pré-existente, especialmente as SHG. Em 2016, o GPSMI realizou tradução e adaptação da dieta DASH para gestantes brasileiras com DM pré-existente (SAUNDERS et al., 2021) e iniciou o ensaio clínico randomizado intitulado “Efeito da Dieta DASH no Resultado Perinatal de Gestantes com Diabetes Mellitus” – DASDIA (*DASH diet for pregnant women with DIAbetes*), desenvolvido na Maternidade Escola da UFRJ (Rio de Janeiro/RJ). A dieta DASH foi comparada à dieta tradicional, já utilizada para orientação nutricional no acompanhamento pré-natal de gestantes com DM pré-existente atendidas na referida maternidade (Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos RBR-4tbgv6).

Entretanto, é importante considerar que o efeito de intervenções dietéticas sobre os resultados da gestação pode variar, dependendo das características genéticas, beneficiando mais ou menos as mulheres de acordo com os seus genótipos (ALABDULJABBAR et al., 2021). Nesse sentido, foi criada a hipótese que polimorfismos nos genes FTO (*fat mass and obesity-associated gene*) e ADRB2 (*adrenoceptor beta 2 gene*), já associados com predisposição à obesidade e hipertensão (LOOS; YEO, 2014; ZHANG; WU; YU, 2014), também poderiam estar relacionados ao GPG excessivo e ao risco para SHG, influenciando o efeito da dieta sobre os desfechos.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência de polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o GPG, pressão arterial sistêmica e SHG em gestantes com DM pré-existente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diabetes mellitus (DM) na gestação

O DM é um distúrbio metabólico em que a deficiência na produção e/ou ação da insulina causa hiperglicemia persistente. Trata-se de doença crônica, que demanda acompanhamento multiprofissional contínuo com integração de estratégias para controle glicêmico e redução do risco de comorbidades (ADA, 2021). Devido a sua crescente prevalência e gravidade das complicações crônicas associadas, o DM apresenta-se como importante problema de saúde pública global (IDF, 2021).

Cerca de 537 milhões de pessoas vivem com DM no mundo, com 6,7 milhões de óbitos anuais atribuíveis à doença (IDF, 2021). No Brasil, são 15,7 milhões de indivíduos com DM, equivalentes a 7% da população, com previsão de atingir 23,2 milhões de casos em 2045 (IDF, 2021). Indivíduos com DM apresentam risco elevado para doenças cardiovasculares – principal causa de mortalidade neste grupo, assim como complicações microvasculares que podem evoluir para doença renal crônica, retinopatia e neuropatia (ADA, 2021).

O DM tipo 1 (DM1), forma identificada em 5 a 10% do total de casos de DM, tem etiologia autoimune e causa destruição de células beta-pancreáticas, que perdem a capacidade de produção e secreção de insulina. O DM tipo 2 (DM2) deriva da resistência à ação da insulina, que pode progredir para a deficiência na síntese e/ou secreção do hormônio quando não há manejo adequado da doença em estágios iniciais. Majoritariamente, o DM2 está relacionado com a obesidade e responde por cerca de 90 a 95% dos casos de DM. Outras formas de DM menos comuns englobam alterações genéticas, doenças do pâncreas exócrino, endocrinopatias, uso de fármacos/componentes químicos e infecções (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES - SBD, 2019).

Em gestantes, o DM pode apresentar-se na forma pré-existente – DM1, DM2 ou formas raras, com diagnóstico prévio à gestação ou realizado durante a assistência pré-natal, ou como diabetes mellitus gestacional (DMG) – quando a hiperglicemia é detectada pela primeira vez durante a gravidez com valores de glicemia que não atingem os critérios diagnósticos para DM (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS; MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL - MS; FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA - FEBRASGO; SBD, 2017; SBD, 2019). Na gestação, o DM representa maior risco para aborto espontâneo, malformações

congênitas, SHG, macrossomia, hipoglicemia neonatal, angústia respiratória neonatal, parto pré-termo, entre outros desfechos adversos (ADA, 2021).

Estima-se que 44% dos adultos com DM no mundo não estejam diagnosticados, a maioria em países de baixa e média renda (IDF, 2021). Diferentes métodos têm sido propostos para o rastreio e diagnóstico de DM durante a assistência pré-natal. Em 2010, o painel de especialistas do *International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group* (IADPSG) apresentou pontos de corte para diagnóstico de DMG e para identificação de DM pré-existente durante a gestação (**Quadro 1**), com base em resultados do estudo *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes* (HAPO). O comitê passou a recomendar a avaliação da glicemia de jejum na primeira consulta de pré-natal para possibilitar a identificação precoce de mulheres com DM pré-existente sem diagnóstico prévio, possibilitando intervenções que previnam complicações (METZGER et al., 2010).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) endossou a proposta do IADPSG em 2013, incluindo a medida de glicemia de 2 horas pós teste oral de tolerância à glicose - TOTG $75\text{g} \geq 200\text{ mg/dL}$ - como critério diagnóstico para DM pré-existente e indicando a utilização dos parâmetros para qualquer idade gestacional. Entretanto, não há consenso entre as sociedades médicas internacionais acerca dos critérios diagnósticos e pontos de corte para avaliação do DM na gestação. A OMS destaca a necessidade de avaliações contextualizadas para implementação dos critérios para diagnóstico de DM na gestação, considerando possíveis adaptações para grupos étnicos e localidades (OMS, 2013).

No Brasil, foi realizada em 2017 uma proposta para padronização do rastreamento e diagnóstico do DM na gestação (OPAS; MS; FEBRASGO; SBD, 2017). Destaca-se nesse documento a importância do rastreio universal, ao contrário da estratificação por fatores de risco anteriormente preconizada pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2012a; 2013), bem como a indicação para adoção dos pontos de corte propostos por IADPSG e OMS. Porém, ressalta-se a necessidade de considerar a viabilidade financeira e técnica para que o método diagnóstico seja o melhor possível, dentro da capacidade local (OPAS; MS; FEBRASGO; SBD, 2017).

Idealmente, todas as gestantes com glicemia de jejum $< 92\text{ mg/dL}$ no início da gestação devem realizar o TOTG 75g na idade gestacional de 24 a 28 semanas. Se o início do pré-natal for após as 20 semanas, deve-se realizar o TOTG com a maior brevidade possível. Em situações de viabilidade financeira e/ou disponibilidade técnica parcial, mediante glicemia de jejum $< 92\text{ mg/dL}$ avaliada antes de 24 semanas de idade gestacional, deve-se repetir o exame entre 24 e 28 semanas da gestação (OPAS; MS; FEBRASGO; SBD, 2017).

Quadro 1 – Critérios propostos para diagnóstico de diabetes mellitus na gestação.

Diagnóstico de DM pré-existente	<ul style="list-style-type: none"> • Glicemia de jejum $\geq 126\text{mg/dL}$; HbA1c $\geq 6,5\%$; glicemia TOTG 75 g de 2 horas $\geq 200\text{mg/dL}$; ou glicemia em qualquer momento $\geq 200\text{mg/dL}$.
Diagnóstico de DMG	<ul style="list-style-type: none"> • Glicemia de jejum $\geq 92\text{mg/dL}$ e $\leq 125\text{mg/dL}$; • Pelo menos um dos valores do TOTG 75g, realizado entre 24 e 28 semanas de idade gestacional: $\geq 92\text{mg/dL}$ (jejum); $\geq 180\text{mg/dL}$ (1 hora); $\geq 153\text{mg/dL}$ (2 horas) - preconizado para todas as gestantes que não apresentaram critérios para o diagnóstico de DMG ou DM no início da gravidez.

DM: diabetes mellitus, DMG: diabetes mellitus gestacional, TOTG 75g: teste oral de tolerância a glicose com 75 gramas, HbA1c: hemoglobina glicada.

Fonte: METZGER et al., 2010; OMS, 2013.

Embora a maioria dos casos de hiperglicemia na gestação (83,6%) sejam de DMG (IDF, 2019), o aumento no número de gestantes com DM pré-existente nos últimos anos merece atenção (ALESSI et al., 2018). Cerca de 7,9% das gestantes com hiperglicemia são casos de DM diagnosticado antes da gestação e 8,5% detectados pela primeira vez durante o acompanhamento pré-natal (IDF, 2019).

Em comparação ao DMG, o DM pré-existente pode apresentar maior risco à saúde materna e fetal, uma vez que a condição adversa é imposta desde a pré-concepção, com efeito na fertilização, implantação, placentaçao e organogênese, especialmente quando não há adequado controle glicêmico. O controle glicêmico pré-concepção (avaliação da hemoglobina glicada - HbA1c $< 6,5\%$) e durante a gestação (HbA1c $< 6\%$, ou até 7% para evitar hipoglicemias) é considerado uma importante estratégia para redução dos riscos adversos do DM à gestação (ADA, 2021).

O manejo do DM e de suas complicações associa o tratamento farmacológico a medidas de estilo de vida como alimentação saudável, prática de exercício físico, qualidade do sono e cessação do tabagismo e do consumo de álcool. As gestantes com DM devem ser referenciadas para um acompanhamento pré-natal especializado, conduzido por equipe multiprofissional, contemplando o aconselhamento direcionado ao DM, além da estratégia de pré-natal habitual. O conjunto de ações terapêuticas durante o pré-natal tem como o objetivo promover a melhor condição de saúde materna e fetal (BRASIL, 2012a; SBD, 2019).

2.1.1 Ganhos de peso gestacional (GPG) em mulheres com DM pré-existente

Durante a gestação, é esperado que ocorra aumento no peso corporal da mulher, referente ao peso fetal e seus anexos, incremento dos tecidos uterino, mamário e adiposo e líquidos corporais. O GPG compõe os ajustes fisiológicos fundamentais para a adaptação do organismo materno, que permitem o adequado crescimento e desenvolvimento fetal (IOM, 2009).

As faixas de recomendação de GPG atualmente vigentes (IOM, 2009; 2013) baseiam-se no IMC pré-gestacional (**Quadro 2**). A adequação às faixas de GPG é fortemente recomendada, de forma que o ganho insuficiente ou excessivo se relaciona com pior prognóstico de saúde para a mulher e a criança (IOM, 2009; 2013).

Quadro 2 – Recomendações de ganho de peso gestacional semanal e total, conforme o IMC pré-gestacional.

IMC (kg/m ²)	Classificação do IMC	Ganho de peso 1º trimestre (kg)	Ganho de peso semanal 2º e 3º trimestres (kg)	Ganho de peso total (kg)
< 18,5	Baixo peso	1,0 – 3,0	0,51 (0,44 – 0,58)	12,5 – 18,0
18,5 – 24,9	Eutrofia	1,0 – 3,0	0,42 (0,35 – 0,50)	11,5 – 16,0
25 – 29,9	Sobrepeso	1,0 – 3,0	0,28 (0,23 – 0,33)	7,0 – 11,5
≥ 30	Obesidade	0,2 – 2,0	0,22 (0,17 – 0,27)	5,0 – 9,0

IMC: índice de massa corporal.

Fonte: adaptado de IOM, 2009; 2013.

Goldstein et al. (2017) conduziram uma metanálise incluindo dados de mais de um milhão de gestantes de diversos países e verificaram que 23% das mulheres ganharam menos peso do que a recomendação e 47% tiveram o GPG excessivo à recomendação. Comparados ao ganho de peso total adequado, o GPG insuficiente foi relacionado a maiores chances de nascimento pequeno para a idade gestacional (PIG) (OR 1,53, IC 95% 1,44;1,64) e parto pré-termo (OR 1,70, IC 95% 1,32;2,20), enquanto o GPG excessivo foi associado a maiores chances de nascimento grande para a idade gestacional (GIG) (OR 1,85, IC 95% 1,76;1,95), macrossomia (OR 1,95, IC 95% 1,79;2,11) e parto cesáreo (OR 1,30, IC 95% 1,25;1,35).

Frente à epidemia global de obesidade, há uma preocupação especial em relação ao excesso de peso em mulheres no período reprodutivo e ao GPG excessivo (SIEGA-RIZ; GRAY, 2013; BRANDÃO et al., 2020; MURRAY HORWITZ et al., 2021). Ambos estão relacionados a desfechos adversos da gestação e efeitos metabólicos de longo prazo na saúde materna e infantil. O GPG excessivo é fator de risco para retenção de peso pós-parto e obesidade futura na mulher, assim como predispõe a criança para obesidade e comorbidades futuras (MCDOWELL; CAIN; BRUMLEY, 2019). Gualdani et al. (2021) identificaram que as mulheres com DM apresentam maior chance de obesidade pré-gestacional (OR 1,49, IC 95% 1,02;2,17 para DM1 e OR 9,35, IC 95% 7,84;11,14 para DM2), comparadas a mulheres sem DM.

As faixas de recomendação de GPG propostas pelo IOM foram desenvolvidas com base em dados de gestantes saudáveis e alguns estudos buscaram verificar a aplicabilidade das faixas de recomendação de GPG em mulheres com DM pré-gestacional, bem como os desfechos relacionados à inadequação (EGAN et al., 2014; SIEGEL et al., 2015). Siegel et al. (2015) avaliaram a adequação do GPG semanal em 340 mulheres norte-americanas com DM pré-gestacional e verificaram 18,8% de GPG abaixo e 70,3% acima das recomendações. As características maternas de idade, raça, paridade, uso de insulina e história obstétrica não foram diferentes entre as mulheres que ganharam peso insuficiente, excessivo ou adequado. O GPG excessivo foi associado ao nascimento GIG (aOR 3,08, IC 95% 1,13;8,39) e à macrossomia (aOR 4,02, IC 95% 1,16;13,90), comparado ao ganho de peso adequado, com resultados ajustados para hipertensão crônica, tipo de diabetes e IMC pré-gestacional.

Egan et al. (2014), em amostra de 259 mulheres irlandesas com DM pré-existente, encontraram 64% de GPG total acima do recomendado, sem diferença entre DM1 e DM2. O GPG excessivo se associou à maior chance para nascimento de recém-nascidos GIG (aOR 3,97, IC 95% 1,85;8,53) e macrossomia (aOR 3,58, IC 95% 1,77;7,24), com resultados ajustados para idade, paridade, etnia, uso de insulina, IMC e tabagismo. Houve maior ocorrência de GPG excessivo em mulheres com sobrepeso ou obesidade e a média de IMC foi diferente comparando quem teve ou não teve GPG acima da recomendação ($29,4 \pm 5,7 \text{ kg/m}^2$ vs. $27,0 \pm 7,7 \text{ kg/m}^2$, $p < 0,001$).

A associação do DM na gestação com o crescimento fetal é um efeito conhecido da hiperglicemias, entretanto, mesmo com bom controle glicêmico a prevalência de GIG se mantém elevada em mulheres com DM1 (EVERS et al., 2002). Em gestações com DM pré-existentes, há um aumento da perfusão de nutrientes para o fígado fetal, o que aumenta a produção dos fatores de crescimento IGF-1 e IGF-2 e consequentemente o peso ao nascer.

Este efeito é potencializado pelo excesso de peso pré-gestacional e pelo GPG excessivo (LUND et al., 2021).

O IMC pré-gestacional das mulheres com DM acompanha a tendência temporal de aumento do IMC na população brasileira nas últimas décadas; além do aumento dos casos de DM2 relacionado à obesidade nas mulheres no período reprodutivo, também há aumento do IMC em mulheres com DM1 (ALESSI et al., 2018). Em uma coorte envolvendo mais de oito mil brasileiras saudáveis, as mulheres com sobrepeso ou obesidade apresentaram maior percentual de GPG excessivo: 30,1%, 30,7%, 56,4% e 46,2% para mulheres com baixo peso, peso adequado, sobrepeso e obesidade, respectivamente (BRANDÃO et al., 2021).

Em mulheres com DM pré-gestacional, o estudo de Siegel et al. (2015) não encontrou diferença entre as classes de IMC para o GPG abaixo, acima ou adequado à recomendação. Egan et al. (2014) encontraram mais mulheres com sobrepeso ou obesidade apresentando GPG excessivo, comparadas às que não excederam o GPG recomendado (44% vs 27% para sobrepeso e 37% vs 25% para obesidade, $p < 0,01$).

Cabe ressaltar que as faixas de recomendação de GPG do IOM foram propostas a partir de dados da população norte-americana e podem não representar adequadamente a população brasileira (BRANDÃO et al., 2021). Atualmente, recomendações específicas para o GPG em mulheres brasileiras estão sendo desenvolvidas e certamente irão permitir uma avaliação mais assertiva de acordo com as características da população (KAC et al., 2021).

2.1.2 Síndromes hipertensivas da gestação (SHG) em mulheres com DM pré-existente

O DM é um reconhecido fator de risco para HAS, e gestantes com DM apresentam risco elevado para desenvolvimento das SHG (ADA, 2021). As SHG são alterações pressóricas específicas do período gravídico, identificadas a partir da vigésima semana de gestação. São caracterizadas pela hipertensão arterial sistólica e/ou diastólica (pressão arterial sistólica - PAS ≥ 140 mmHg; pressão arterial diastólica - PAD ≥ 90 mm Hg), podendo apresentar proteinúria e/ou outras disfunções orgânicas (pré-eclâmpsia) e evoluir para quadros convulsivos (eclâmpsia) ou apresentação clínica da síndrome HELLP, com hemólise, elevação de enzimas hepáticas e trombocitopenia. Este grupo de SHG implicam em expressivo aumento da morbimortalidade materna e fetal (ACOG, 2020).

Considerando as alterações pressóricas que podem ocorrer na gestação, a PE causa o maior impacto na morbidade e mortalidade materno-infantil e o DM pré-existente aumenta expressivamente o risco para PE. Enquanto atinge cerca de 2 a 7% das gestações sem DM, a

PE é diagnosticada em 15 a 20% das gestantes com DM1 e 10 a 14% com DM2 (WEISSGERBER; MUDD, 2015). A etiologia da PE ainda não está totalmente elucidada e envolve interações entre aspectos genéticos e ambientais. A combinação de fatores de risco pré-existentes e anormalidades na formação placentária resultam em disfunção endotelial sistêmica materna, derivando as condições que caracterizam a PE (**Quadro 3**). Além do DM pré-existente, outros fatores de risco para PE são nuliparidade, gestação gemelar, PE em gestação prévia, HAS, trombofilia, lúpus eritematoso sistêmico, obesidade, doença renal, idade materna superior a 35 anos, síndrome do anticorpo antifosfolipídio, gravidez por reprodução assistida e apneia obstrutiva do sono (ACOG, 2020).

Adaptações hemodinâmicas são fundamentais na gestação para garantir o adequado suprimento fetal de nutrientes e oxigênio e regulação dos níveis pressóricos maternos. Os ajustes fisiológicos no sistema cardiovascular para aumento do débito cardíaco, na ordem de 50% ao termo, passam pelo aumento da frequência cardíaca e da volemia, em integração aos ajustes nos sistemas renal e respiratório para oferecer suficiente perfusão uterina. Espera-se uma redução de até 35% da resistência vascular, sendo a vasodilatação mediada por hormônios (estrogênio, progesterona, gonadotrofina coriônica humana e relaxina) e fatores placentários pró-angiogênicos, como o PIGF (*placental growth factor*). As artérias uterinas respondem à sinalização endócrina para vasodilatação por meio da ação do óxido nítrico e o fluxo sanguíneo no útero aumenta de 50 mL/minuto na pré-gestação para 700 a 900 mL/minuto no terceiro trimestre da gravidez (DOHERTY et al., 2020).

Entretanto, uma falha no processo de invasão trofoblástica à decídua materna compromete o remodelamento das artérias uterinas espiraladas e inviabiliza o estabelecimento normal da circulação materno-fetal. Estabelece-se, assim, um ambiente de inadequada perfusão uterina, hipóxia, redução da síntese e secreção de fatores placentários pró-angiogênicos, produção anormal de fatores anti-angiogênicos, alteração no tônus vascular e redução da produção de óxido nítrico, bem como aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio. Esse conjunto de alterações compõe a etiologia da pré-eclâmpsia, associadas a características de predisposição genética (WEISSGERBER; MUDD, 2015; DOHERTY et al., 2020).

Quadro 3 – Condições que caracterizam a pré-eclâmpsia.

Hipertensão arterial
Forma leve: PAS \geq 140 mmHg ou PAD \geq 90 mmHg, em duas ocasiões com pelo menos quatro horas de intervalo, detectada a partir da vigésima semana de gestação, em mulheres previamente normotensas.
Forma grave: PAS \geq 160 mmHg ou PAD \geq 110 mmHg, confirmada com segunda medida em intervalo curto (15 minutos), para início oportuno da terapia anti-hipertensiva.
E Proteinúria
\geq 300 mg/24h OU razão proteína/creatinina \geq 0,3.
OU Disfunções orgânicas
Trombocitopenia – contagem de plaquetas \leq 10x10 ⁹ /L OU Insuficiência renal: concentrações séricas de creatinina $>$ 1,1 mg/dL ou elevação ao dobro da concentração sérica, na ausência de outra doença renal OU Função hepática comprometida: elevação ao dobro das concentrações sanguíneas das transaminases hepáticas OU Edema pulmonar OU Cefaleia recente que não responde à medicação, não relacionada a diagnósticos alternativos ou sintomas visuais

PAS: pressão arterial sistólica, PAD: pressão arterial diastólica.

Fonte: ACOG, 2020.

Agentes anti-hipertensivos são utilizados para manejo da HAS grave, mas a reversão completa da PE só ocorre com a interrupção da gestação e expulsão da placenta. Portanto, o controle pressórico é fundamental para que a gravidez possa ser mantida, garantindo o desenvolvimento do conceito. Nesse sentido, a PE de início precoce, antes de 34 semanas de gestação, representa maior desafio. A mortalidade perinatal é elevada por prematuridade, descolamento prematuro de placenta e restrição de crescimento intrauterino, com 35% de aumento do risco de morte fetal (MONTENEGRO et al., 2017; SBD, 2019).

Quanto à saúde da mulher, as SHG são a principal causa de morte materna no Brasil (BRASIL, DATASUS, *online*). A história de SHG a coloca em maior risco para HAS, doenças cardiovasculares e disfunção renal, bem como para ocorrência de SHG em futuras gestações (UMESAWA; KOBASHI, 2017). O risco para doenças cardiovasculares é aumentado em duas vezes para mulheres com histórico de PE, e o risco é de 8 a 9 vezes maior em mulheres que tiveram interrupção da gestação antes de 34 semanas (MONTENEGRO et

al., 2017). Como medida preventiva para PE em gestantes com DM pré-existente, o uso de aspirina em baixa dose deve ser prescrito, preferencialmente antes das 16 semanas de gestação, até as 36 semanas (MAGEE et al., 2021).

A terapia nutricional tem grande importância no acompanhamento multidisciplinar destinado às gestantes com DM, visando prevenção das complicações e seus desfechos adversos à saúde materno-fetal (SBD, 2019). Como nutriente isolado de potencial preventivo à PE, destaca-se o cálcio, com suplementação recomendada pela OMS em dose de 1,5 a 2 g/dia (ou em baixa dose de 500 a 600 mg/dia, mediante avaliação contexto-específica) em populações com baixa ingestão de cálcio na dieta (<900 mg/dia), especialmente em gestantes com fatores de risco para PE (OMS, 2016). A *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy* (ISSHP) recomenda suplementação diária na dose de 500 mg para as gestantes com consumo inferior a 600 mg/dia de cálcio (MAGEE et al., 2021).

Intervenções dietéticas podem reduzir em cerca de 30% o risco para PE, efeito possivelmente mediado por melhor controle da glicemia e adequação do ganho de peso (ALLEN et al., 2014). Recomenda-se fortemente a gestantes e mulheres no período reprodutivo a adoção de um padrão alimentar saudável, que atue sobre os controles pressórico e glicêmico, proporcione adequado ganho de peso e ofereça quantidades diárias ótimas de macro e micronutrientes que atendam às necessidades maternas e fetais (SBD, 2019; ADA, 2021).

2.2 Terapia nutricional para manejo do DM na gestação: potencial da dieta DASH

As gestantes com DM devem receber orientação nutricional individualizada, alinhada às demais estratégias terapêuticas para atingir as metas do tratamento. O cálculo da quantidade de calorias diárias obedece às recomendações para GPG de acordo com o IMC pré-gestacional, considerando também a idade e o nível de atividade física da gestante (SBD, 2019).

A distribuição de macronutrientes recomendada para gestantes com DM pré-existente é de 40 a 55% de carboidratos, 15 a 20% de proteínas e 30 a 40% de lipídios. A recomendação de carboidratos deve ser dividida em 10 a 15% no café da manhã, 30% no almoço e jantar e o restante nos lanches, objetivando-se evitar episódios de hiperglicemia, hipoglicemia ou cetose, com atenção especial para adequação de doses e horários do uso de insulina. O fracionamento do plano alimentar em três refeições grandes e três pequenas é geralmente indicado (SBD, 2019).

A importância da adoção de uma alimentação saudável na gestação para a saúde materna e infantil é bem estabelecida e largamente preconizada (MATE et al., 2021). Enquanto a adoção de um padrão dietético ocidentalizado – contendo carnes processadas, doces, bebidas açucaradas e alta quantidade de gorduras saturadas – aumenta o risco para PE, um padrão alimentar considerado saudável, com frutas, hortaliças, vegetais coloridos e gorduras mono e poli-insaturadas pode atuar na redução do risco (HAJIANFAR et al., 2018; IKEM et al., 2019). Hiperglicemia, GPG excessivo e hipertensão gestacional são fatores de risco modificáveis para PE e, portanto, alvos fundamentais da terapia nutricional direcionada a gestantes com DM (VESTGAARD et al., 2018).

A dieta DASH foi apresentada na década de 1990 como uma estratégia nutricional efetiva para prevenção e tratamento da HAS, em adultos de ambos os sexos, após ensaios clínicos conduzidos por pesquisadores norte-americanos (HARSHA et al., 1999; SACKS et al., 1995). Atualmente, é apontada como principal tratamento dietético para HAS e preconizada como padrão alimentar saudável para manejo do DM pela SBD (2019) e pela ADA (2021), devido aos seus benefícios relacionados ao controle metabólico e à prevenção de doenças cardiovasculares. Nesse sentido, estudos com objetivo de avaliar os possíveis benefícios da dieta DASH sobre desfechos obstétricos e perinatais têm sido conduzidos em diversos países (**Quadro 4**).

O padrão alimentar DASH apresenta composição rica em frutas, verduras, legumes, cereais integrais e laticínios com baixo teor de gordura. Prioriza consumo de carnes brancas em detrimento das vermelhas, inclui sementes e oleaginosas e limita o consumo de doces e alimentos ricos em sódio. Com relação aos nutrientes, considerando uma dieta de 2.100 kcal/dia, a dieta DASH é rica em cálcio (≥ 1.240 mg), magnésio (≥ 500 mg) e potássio (≥ 4.700 mg), apresenta alto teor de fibras (≥ 31 g) e provê grande quantidade de compostos antioxidantes. Com relação às gorduras ($\leq 27\%$ das calorias diárias totais), apresenta baixo teor de ácidos graxos saturados ($\leq 6\%$) e colesterol (≤ 150 mg). A ingestão de sódio é limitada em 2400 a 3000 mg/dia (PHILLIPS et al., 1999; WINDHAUSER et al., 1999).

Quadro 4 – Estudos que avaliaram a associação entre dieta DASH e desfechos obstétricos e perinatais.

Ano de publicação, autores, local	Tipo de estudo e amostra	Resultados
2013 Asemi et al, Irã	ECR, gestantes com DMG n= 17, grupo DASH n=17, grupo controle	↓ Glicemia pós TOTG, HbA1c, Colesterol total, LDL-c, TG, colesterol total:HDL-c, PAS, insulinemia, RI. ↑ CAT, GSH. Sem efeito em proteína C-reativa.
2014 Asemi et al, Irã	ECR, gestantes com DMG n= 26, grupo DASH n=26, grupo controle	↓ Cesariana, macrossomia, uso de insulina pós-parto. Sem efeito em polidrâmnio e IG no parto.
2018 Van Horn et al, EUA	ECR, gestantes com sobrepeso/obesidade n= 140, grupo DASH n=140, grupo controle	↓ GPG, GPG excessivo, leptina. ↑ Cesariana. Sem efeito em PAS, IG no parto, DMG, peso ao nascer, peso para IG, composição corporal.
2018 Fulay et al, EUA	Coorte 1.760 gestantes	↑ GPG em mulheres com obesidade. Sem efeito em SHG, DMG, parto pré-termo, peso ao nascer.
2019 Jiang et al, China	ECR, gestantes com HAS pré-gestacional ou HAG n= 41, grupo DASH n= 41, grupo controle	↓ PE, PE severa, prematuridade, BPN. ↑ Comprimento ao nascer, IG no parto. Sem efeito em cesariana, hemorragia pós-parto, Apgar 1' e 5'.
2019 Arvizu et al, EUA	Coorte 13.645 mulheres, avaliação pré-gestacional	↓ PE.
2020 Courtney et al, Irlanda	Coorte 511 gestantes com história de macrossomia	↓ PAS 1º trimestre, PAD 1º e 3º trimestres e PAM 1º e 3º trimestres.
2020 Cao et al, China	Caso-controle n= 449, gestantes com PE n= 449, gestantes sem PE	↓ PE.

BPN: baixo peso ao nascer, CAT: capacidade antioxidante total, DMG: diabetes mellitus gestacional, ECR: ensaio clínico randomizado, GPG: ganho de peso gestacional, GSH: glutatona total, HAG: hipertensão arterial gestacional, HAS: hipertensão arterial sistêmica, HbA1c: hemoglobina glicada, HDL-c: lipoproteínas de alta densidade, IG: idade gestacional, LDL-c: lipoproteínas de baixa densidade, PAD: pressão arterial diastólica, PAM: pressão arterial média, PAS: pressão arterial sistólica, PE: pré-eclâmpsia, RI: resistência à insulina, SHG: síndromes hipertensivas da gestação, TG: triglicerídeos, TOTG: teste oral de tolerância à glicose, ↓ diminuiu, ↑ aumentou.

Em 2013, Asemi et al. (2013a; 2013b) conduziram um ensaio clínico randomizado para testar o efeito da dieta DASH em comparação a uma dieta controle com mesma distribuição de macronutrientes, em uma amostra de 34 gestantes iranianas com DMG, 17 em cada grupo de intervenção dietética. As gestantes foram incluídas no estudo entre 24 e 28 semanas de idade gestacional e a intervenção durou quatro semanas. Ao comparar dados de antes e depois da intervenção, os pesquisadores verificaram que as mulheres alocadas no grupo DASH, em relação à dieta controle, apresentaram maior média de redução da glicemia na avaliação do TOTG em 60min (-1,86 vs. -0,45 mmol/l, p = 0,02), 120min (-2,3 vs. 0,2 mmol/l, p = 0,001) e 180 min (-1,7 vs. 0,22 mmol/l, p = 0,002), maior redução da HbA1c (-0,2 vs. 0,05 %, p = 0,001), da resistência à insulina (HOMA-IR -0,8 vs. 1,1, p = 0,03) e insulinemia (-2,62 vs. 4,32, p = 0,03).

No mesmo estudo (ASEMI et al., 2013a; 2013b), também houve benefícios da dieta DASH em relação à dieta controle quanto ao perfil lipídico das gestantes com DMG, considerando as médias de variações em colesterol total (-0,42 vs. 0,31 mmol/l, p = 0,01), LDL-colesterol (-0,47 vs. 0,22 mmol/l, p = 0,005), triglicerídeos (-0,17 vs. 0,34 mmol/l, p= 0,01) e razão colesterol total: HDL-colesterol (-0,6 vs. 0,3, p = 0,008). Ainda, houve aumento na capacidade antioxidante total (45,2 vs. -159,24 mmol/L, p < 0,001) e glutatona total (108,17 vs. -150,96 µmol/L, p < 0,001). A PAS teve redução no grupo dieta DASH e aumento no grupo controle (-2,6 vs. 1,7 mmHg, p = 0,001).

Em 2014, Asemi et al. avaliaram os efeitos da adoção da dieta DASH em relação à dieta controle, por quatro semanas, em gestantes com DMG (n=26 em cada grupo de intervenção dietética), considerando desfechos perinatais. Os autores reportaram que no grupo dieta DASH houve menor percentual de ocorrência de partos cesáreos (46,2% vs. 80,8%, p = 0,01), macrossomia (3,8% vs. 38,5%, p < 0,01) e necessidade de uso de insulina após o parto (23% vs. 73%, p < 0,01).

Em 2018, Van Horn et al. relataram os resultados de um ensaio clínico randomizado realizado com gestantes norte-americanas com objetivo de promover controle do GPG por meio de orientações nutricionais com base na dieta DASH, associadas ao incentivo à prática de atividade física e qualidade do sono, comparadas a um grupo controle. As gestantes (n=140 no grupo intervenção e n=140 no grupo controle) apresentavam sobrepeso e obesidade e foram incluídas no estudo com até 16 semanas de gestação. As gestantes do grupo intervenção tiveram boa adesão à dieta DASH, verificada por meio de avaliação do consumo alimentar, mas não aderiram às modificações propostas para prática de atividade física e tempo de sono. Ainda assim, houve menor frequência de casos de GPG excessivo (68,6% vs. 84,4%, p=

0,004), embora alta em ambos os grupos. As concentrações séricas de leptina foram inferiores no grupo intervenção (54 µg/L vs. 59 µg/L, p = 0,003), mas foi maior a ocorrência de parto cesáreo (40% vs. 27%, p = 0,03), resultado que precisa ser explorado em outras investigações.

Fulay et al. (2018) encontraram resultados conflitantes em relação ao GPG ao avaliar de forma retrospectiva uma coorte de 1.760 gestantes americanas. Neste estudo, a maior adesão à dieta DASH, avaliada por meio de um escore aplicado aos dados de consumo alimentar, não teve associação significativa com incidência de SHG e foi associada a maior GPG em mulheres com obesidade. Os autores discutem que pode haver viés de relato do consumo destas mulheres, bem como variações endócrinas e/ou genéticas interagindo com o padrão alimentar na definição de desfechos.

Jiang et al. (2019) avaliaram o efeito da dieta DASH, em relação a uma dieta controle saudável com mesma distribuição de macronutrientes, em ensaio clínico randomizado incluindo 85 gestantes chinesas com HAS ou hipertensão gestacional. As gestantes foram incluídas no estudo com idade gestacional até 28 semanas e a intervenção foi continuada até o parto. A incidência de PE foi inferior no grupo que adotou dieta DASH (43,2% vs. 65,9%, p = 0,036), embora alta em ambos os grupos, com diferença significativa também para PE severa (2,3% vs. 17,1%, p = 0,05), além de apresentarem melhores resultados quanto à prematuridade (0 vs. 19,6%, p = 0,026) e baixo peso ao nascer (2,1% vs. 20,5%, p = 0,014).

Courtney et al. (2020) conduziram estudo observacional incluindo 511 gestantes irlandesas saudáveis com histórico de macrossomia, mas não de DMG, para avaliar o padrão alimentar adotado e verificar relação com a trajetória da pressão arterial nos trimestres de gestação. Um escore de adesão ao padrão alimentar DASH foi calculado a partir dos dados de consumo alimentar das gestantes em cada trimestre, com divisão em quintis. Os pesquisadores observaram associação entre maior quintil de adesão à dieta DASH e menor PAS no primeiro trimestre (B -0,97, IC 95% -1,79; -0,15) e PAD no primeiro (B -0,70, IC 95% -1,21; -0,18) e no terceiro trimestre (B -0,68, IC 95% -1,19; -0,17), controlando as análises para as variáveis IMC, idade, escolaridade e consumo energético. Para cada 5 pontos de aumento do escore de adesão à dieta DASH, observou-se redução de 1 mmHg na PAD e na pressão arterial média (PAM).

Em estudo do tipo caso-controle comparando gestantes chinesas com e sem PE (n=449 em cada grupo, 13% das gestantes com DMG), o consumo alimentar foi avaliado três meses antes do parto, por meio de um escore de adesão à dieta DASH. No grupo sem PE, as médias de escore DASH foram superiores. As gestantes com maior adesão ao padrão alimentar DASH (quarto quartil) apresentaram chance 47% menor de desenvolvimento de PE, em

relação ao primeiro quartil (OR 0,53, IC 95% 0,36;0,78, $p = 0,001$), em modelo ajustado para múltiplos confundidores, incluindo paridade e IMC pré-gestacional (CAO et al., 2020).

Ao avaliar uma coorte composta por mais de 13 mil mulheres norte-americanas, em 20 mil gestações, 5,4% desenvolveram SHG com 2,5% das gestações acometidas por PE. O consumo alimentar pré-gestacional foi avaliado com a aplicação de um escore de adesão à dieta DASH e verificou-se que o risco para PE foi reduzido em 38% (RR 0,62, IC 95% 0,45;0,84, $p = 0,002$) nas mulheres classificadas no maior quintil de adesão à dieta DASH antes da gestação, em relação ao menor quintil de adesão (ARVIZU et al., 2019).

Os benefícios da dieta DASH podem ser explicados por sua composição nutricional. A adoção de um padrão alimentar rico em hortaliças, frutas, grãos integrais, oleaginosas, peixes e óleos vegetais, restrito em carnes, cereais refinados e açúcar, antes e durante a gestação, está associado a redução do risco para PE e outras complicações da gestação (RAGHAVAN et al., 2019), especialmente para mulheres com DM (MATE et al., 2021). O consumo de fibras dietéticas, promovido pelo aumento das porções de frutas, hortaliças e cereais integrais, já foi relacionado a melhor controle glicêmico, perfil lipídico e redução do risco de PE (REYNOLDS et al., 2020; RAGHAVAN et al., 2019).

Os alimentos de origem vegetal acrescentam grandes quantidades de nutrientes e compostos bioativos com alta capacidade antioxidante, que apresentam papel fundamental na proteção dos sistemas materno-fetais, especialmente considerando o estresse oxidativo como parte da etiologia da PE. Também representam aumento da oferta de potássio e magnésio, nutrientes envolvidos na regulação da pressão arterial sistêmica (BORGHI et al., 2020).

A composição lipídica da dieta DASH favorece o controle pressórico, bem como o consumo diário e regular de oleaginosas demonstra efeito direto na redução da pressão arterial, atribuído a sua composição nutricional de ácidos graxos insaturados, especialmente ácido alfa-linolênico, fibras, arginina, tocoferóis, folato, potássio, magnésio, cálcio, selênio, fitoesteróis e polifenóis, com capacidade de melhorar a função endotelial (STRILCHUK et al., 2020). O cálcio é um nutriente chave da dieta DASH para redução da pressão arterial e o consumo insuficiente se relaciona como maior risco para PE (HOFMEYR et al., 2018). Cabe ressaltar que na dieta DASH não é sugerida a restrição de sódio, mas sim o consumo em faixa segura, como outros padrões alimentares saudáveis. A restrição de sódio não é indicada para gestantes com objetivo de prevenir ou tratar SHG, a recomendação é para que se seja evitado o consumo excessivo (OMS, 2011).

Entretanto, as respostas individuais à intervenção dietética são influenciadas pelo genótipo (FERGUSON et al., 2016), de forma que o efeito da dieta sobre os desfechos da

gestação pode ser diferente entre as mulheres, dependendo de características genéticas (ALABDULJABBAR et al., 2021). Assim, destaca-se a relevância da investigação da interação gene-dieta para desenvolvimento de estratégias direcionadas à saúde de gestantes com DM.

2.3 Nutrigenética na gestação

No início dos anos 2000, o sequenciamento completo do DNA humano foi apresentado pela primeira vez, com a conclusão do Projeto Genoma Humano (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001; VENTER et al., 2001). Desde então, a inserção da genômica no âmbito da pesquisa clínica é crescente. Na nutrição, a área conhecida como Nutrigenética representa um avanço sem precedentes na compreensão de interações biológicas complexas entre a dieta e o genoma humano, possibilitando a investigação de respostas biológicas individuais a intervenções dietéticas influenciadas pelo genótipo (CORELLA; ORDOVÁS, 2018).

As principais variações genéticas interindividuais, 90% do total, consistem em substituições em uma única base nitrogenada do DNA, chamadas de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP, do inglês *single nucleotide polymorphism*). Considerando que a formação de uma proteína segue a sequência de inserção de aminoácidos ditada por conjuntos de três bases nitrogenadas (códons) no RNA mensageiro, modificações nas bases podem repercutir em alteração na ordem ou na composição de aminoácidos da proteína, alterando a sua funcionalidade. Podem ocorrer em apenas um ou em ambos os alelos, configurando genótipos homo ou heterozigotos (CAMP; TRUJILLO, 2014).

Em Nutrigenética, são estudados polimorfismos em genes relacionados a predisposição para doenças crônicas e suas interações com a dieta, visando à construção de estratégias nutricionais personalizadas. Dependendo do genótipo, os indivíduos têm variações na expressão e/ou na atividade de proteínas que podem ser enzimas, receptores, hormônios e transportadores (COMINETTI et al., 2017).

A gestação é um período de intensas adaptações fisiológicas e metabólicas para garantia da saúde materna e do desenvolvimento fetal. Polimorfismos em genes envolvidos nestes processos causam variações na forma como o organismo materno se adapta à gestação. Considerando os preceitos da Nutrigenética, tais variações podem interagir com a dieta, fazendo com que as características ótimas de uma dieta para promover os melhores desfechos da gestação sejam diferentes entre as mulheres (ALABDULJABBAR et al., 2021).

2.3.1 Polimorfismos no gene *FTO*

O gene FTO (*fat mass and obesity-associated gene*) está localizado no cromossomo 16 e codifica uma proteína com função demetilase, que remove grupos metil ligados às moléculas de DNA e RNA. A expressão do FTO é predominante no núcleo arqueado do hipotálamo, região responsável pela homeostase energética e regulação do peso corporal. Embora o mecanismo de ação da proteína não esteja totalmente elucidado, polimorfismos agrupados no primeiro intron do gene FTO são fortemente associados à obesidade em diversas populações (LOOS; YEO, 2014), inclusive a brasileira (FONSECA et al., 2020).

Os alelos de menor frequência (MAF, da sigla *minor allele frequency* em inglês) dos SNP rs9939609 (A) e rs17817449 (G) ocorrem em 39,86% e 38,94% da população global, respectivamente (PHAN et al., 2020) e são frequentemente associados ao risco para obesidade, embora as frequências e associações possam variar entre diferentes populações e etnias (LOOS; YEO, 2014).

Por ser frequentemente associado à predisposição para obesidade, o polimorfismo rs9939609 (T/A) no gene FTO tem sido estudado quanto ao seu papel no IMC pré-gestacional e no GPG (**Quadro 5**). O alelo A parece representar risco aumentado para maior IMC pré-gestacional (KROLL et al., 2018; 2021; BEYSEL et al., 2019; ANDRAWEERA et al., 2016; MARTINS et al., 2016; WEHBY; SCHOLDER, 2013; LAWLOR et al., 2011), mas os resultados são controversos (SAUCEDO et al., 2017; FRANZAGO et al., 2017; KLEMETTI et al., 2011). O alelo A parece também oferecer maior risco para GPG excessivo (GROTH et al., 2015; 2018; GESTEIRO et al., 2016; WEHBY; SCHOLDER, 2013; LAWLOR et al., 2011), mas alguns estudos não observaram tal relação (BEYSEL et al., 2019; SAUCEDO et al., 2017; MARTINS et al., 2016).

Andraweera et al. (2016) investigaram a associação do rs9939609 com desfechos adversos da gestação: PE, hipertensão gestacional, PIG e parto pré-termo espontâneo. Comparadas às gestações isentas de complicações, a frequência do genótipo AA foi maior em mulheres com nascidos PIG (19,2% vs. 13,4%, p = 0,020) e em mulheres com parto pré-termo espontâneo (20,8% vs. 13,4%, p = 0,009) e o genótipo AA nos neonatos também foi associado aos desfechos PIG e pré-termo. Não houve relação do polimorfismo com as SHG. Similarmente, Zotova et al. (2019) não encontraram relação entre a distribuição de frequências dos genótipos do rs9939609 e o desenvolvimento de SHG.

Quadro 5 – Síntese dos estudos que investigaram a relação do polimorfismo rs9939609 no gene FTO com IMC pré-gestacional e ganho de peso gestacional.

Ano de publicação, autores, local	Tipo de estudo e amostra	Resultados
2018/2021 Kroll et al., Brasil	Observacional, coorte prospectiva. n= 445	Carreadoras do alelo A apresentaram maior IMC antes da gestação e durante o seguimento de 6 anos após o parto.
2019 Beysel et al., Turquia	Caso-controle. n= 160 com DMG n= 145 sem DMG	Genótipo AA foi associado com maior risco para sobre peso/obesidade pré-gestacional, mas não com GPG excessivo. O genótipo AA foi associado com maior risco para DMG.
2018 Groth et al., Estados Unidos	Análise secundária de um ensaio clínico. n = 580 com cor da pele preta n = 194 com cor da pele branca	Mulheres com obesidade, com cor da pele preta, carreadoras do alelo A, tiveram maior GPG comparadas ao genótipo TT.
2017 Saucedo et al., México	Caso-controle. n= 80 com DMG n= 80 sem DMG	Sem associação com IMC pré-gestacional ou GPG. Sem associação com DMG.
2017 Franzago et al., Itália	Caso-controle. n= 102 com DMG n= 66 sem DMG	Sem associação com IMC pré-gestacional. Sem associação com DMG.
2016 Andraweera et al., Austrália e Nova Zelândia	Caso-controle. n= 1.185 sem complicações n= 556 com complicações (HG, PE, PIG, parto pré-termo)	Homozigotas AA tiveram maior IMC com 15 semanas de gestação comparadas às homozigotas TT. Associação do genótipo AA com PIG e parto pré-termo.
2016 Martins et al., Brasil	Observacional, coorte prospectiva. n= 136	Genótipo AA foi associado ao IMC pré-gestacional $\geq 25 \text{ kg/m}^2$, mas não ao GPG excessivo ou retenção de peso pós-parto.
2016 Gesteiro et al., Espanha	Transversal. n= 53	GPG foi mais alto em mulheres com genótipos AA e AT, em comparação ao TT.
2015 Groth et al., Estados Unidos	Observacional, coorte prospectiva. n= 97	Mulheres com obesidade e genótipo AA tiveram maior risco para GPG excessivo comparadas a mulheres com obesidade não carreadoras do alelo A e a mulheres sem obesidade.
2011/2013 Lawlor et al., Wehby; Scholder, Reino Unido	Observacional, coorte prospectiva. n= 14.000	Alelo A foi associado com maior IMC e obesidade pré-gestacional. Compondo um escore de risco genético (em adição a outros polimorfismos), houve associação com GPG.
2011 Klemetti et al., Finlândia	Caso-controle. n= 485 com PE n= 449 sem PE	Sem associação com o IMC pré-gestacional. Sem associação com PE.

FTO: *fat mass and obesity-associated gene*, IMC: índice de massa corporal, GPG: ganho de peso gestacional. DMG: diabetes mellitus gestacional, HG: hipertensão gestacional, PE: pré-eclâmpsia, PIG: pequeno para a idade gestacional.

Em uma amostra de 485 gestantes finlandesas, não houve diferença nas frequências dos genótipos do rs9939609 (AA, AT, TT) comparando mulheres que desenvolveram (15%, 53% e 32%) e que não desenvolveram PE (16%, 47% e 37%), respectivamente ($p = 0,199$). Porém, tratava-se de uma amostra com casos predominantes de PE severa e com início precoce, de forma que os casos leves e de início tardio não estiveram representados nesta amostra (KLEMETTI et al., 2011). Em amostras de população não-gestante, o alelo A já foi associado a elevação da pressão arterial e maior risco para HAS em adolescentes canadenses (PAUSOVA et al., 2009), crianças e adolescentes chineses com obesidade (XI et al., 2013) e crianças mexicanas (GARCÍA-SOLÍS et al. 2016). Em indivíduos brasileiros com HAS, não houve associação do rs9939609 com a PAS, PAD ou PAM (MARCADENTI et al., 2013).

Fonseca et al. (2020) investigaram a relação dos polimorfismos rs9939609 e rs17817449 (T/G) no gene FTO e a obesidade grave ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$) em indivíduos brasileiros adultos (18 a 65 anos de idade, 68,2% mulheres). Os indivíduos carreadores do alelo A para o rs9939609 tiveram risco 1,7 vezes maior de desenvolver obesidade grave (OR 1,70, IC 95% 1,19;2,43, $p = 0,003$) em comparação ao alelo T; e os carreadores do alelo T para o rs17817449 tiveram quase o dobro do risco (OR 1,98, IC 95% 1,33;2,96, $p = 0,001$) em relação ao alelo G, com resultados ajustados para sexo e idade. O haplótipo rs9939609:rs17817449 (A/T) representou 87% maior chance para obesidade severa na amostra (OR 1,87, IC 95% 1,32;2,66, $p < 0,001$).

Em indivíduos mexicanos adultos com obesidade, o alelo G do polimorfismo rs17817449 apresentou maior frequência comparada à frequência do alelo T (21% vs. 18%; OR=1,3; $p = 0,007$), após ajuste para sexo, idade e ascendência (ameríndia ou europeia). Na mesma população, o genótipo GG representou maior risco para obesidade classes 2 e 3, com $IMC > 35 \text{ kg/m}^2$ (OR 1,4, IC 95% 1,16;1,81, $p = 0,005$), mas não para obesidade com IMC inferior a 35 kg/m^2 (OR 1,2, IC 95% 0,96;1,43, $p = 0,11$) (SALDAÑA-ALVAREZ et al., 2016). Em uma amostra de 1.005 adolescentes colombianos, o genótipo GG foi positivamente associado ao IMC ($\beta = 0,007$, IC 95% 0,001;0,014, $p = 0,031$), em modelo ajustado para idade, sexo e estágio puberal (MUÑOZ et al., 2017).

A relação do polimorfismo rs17817449 com desfechos da gestação ainda é pouco explorada na literatura. Al-Ogaidi et al. (2019) identificaram maior chance para sobrepeso ou obesidade materna ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) em gestantes iraquianas com genótipo GG, em comparação ao TT (OR 3,97, IC 95% 1,21;13,05, $p = 0,02$). Em mulheres com ou sem excesso de peso, o polimorfismo foi associado a maior IMC, colesterol total e LDL-c.

Estudos prévios sugerem que o efeito dos polimorfismos no gene FTO sobre o fenótipo obesidade pode ser atenuado por dieta hipocalórica e hiperproteica (de LUIS et al., 2015), dieta rica em fibras (HOSSEINI-ESFAHANI et al., 2017a) e dieta mediterrânea (HOSSEINI-ESFAHANI et al., 2017b), assim como pode ser exacerbado por dieta hiperlipídica (SONESTEDT et al., 2009) e padrão dietético ocidental (HOSSEINI-ESFAHANI et al., 2019). Martins et al. (2016) identificaram que gestantes brasileiras com genótipo AA para o rs9939609 aumentaram o consumo energético e de alimentos ultraprocessados durante a gestação. Entretanto, o tipo de dieta que pode favorecer os desfechos da gestação de acordo com os polimorfismos no gene FTO ainda não é conhecida.

2.3.2 Polimorfismos no gene ADRB2

O gene ADRB2 (*adrenoceptor beta 2 gene*) está localizado no cromossomo 5 e codifica o receptor beta2-adrenérgico, uma proteína que atua como receptor de catecolaminas em diversos tipos celulares. Trata-se de receptor acoplado à proteína G, com sinalização celular mediada por adenilato ciclase e AMP cíclico. As variações em genes dos receptores beta-adrenérgicos ganham foco em investigações de nutrigenética porque são amplamente expressos em diversos tecidos, integram grande quantidade de processos fisiológicos, têm papel bem descrito na gênese de doenças cardiovasculares e metabólicas, são alvos de tratamentos farmacológicos e interagem com a dieta (EISENACH; WITTWER, 2010; EISENACH et al., 2014).

Os SNP mais estudados em relação à obesidade, DM2 e HAS no gene ADRB2 são o rs1042713 (G/A) e o rs1042714 (C/G) (ZHANG; WU; YU, 2014; GJESING et al., 2007; 2009). Ambos os polimorfismos são comuns na população global, com MAF de 38,70% (A) e 39,72% (G), respectivamente (PHAN et al., 2020).

No endotélio vascular, o estímulo adrenérgico ao receptor beta2-adrenérgico promove vasodilação e liberação de óxido nítrico, portanto, tem efeito direto na regulação da pressão arterial sistêmica, sob controle do sistema nervoso simpático. Os carreadores dos alelos G para ambos os polimorfismos são mais responsivos ao estímulo vasodilatador e desempenham melhor função miocárdica, de forma que os alelos A (rs1042713) e C (rs1042714) configuram maior risco para HAS e doenças cardiovasculares. Os carreadores do alelo G (rs1042713), especialmente no haplótipo rs1042713:rs1042714 (G/G), apresentam uma densidade 50% maior de receptores beta 2-adrenérgicos em células cardíacas e endoteliais, o que pode

contribuir para a melhor resposta cardiovascular (EISENACH; WITTWER, 2010; EISENACH et al., 2014).

A sensibilidade dos receptores endoteliais beta2-adrenérgicos está aumentada na gestação, em um efeito progesterona-dependente para redução da resistência vascular periférica. A disfuncionalidade dos receptores pode ser um dos fatores responsáveis pela vasoconstrição observada na hipertensão gestacional e PE (AUNE et al., 2000). Aune et al. (2000) compararam um grupo de oito gestantes com PE a um grupo com a mesma quantidade de gestantes sem PE no terceiro trimestre gestacional, em relação à funcionalidade dos receptores beta 2-adrenérgicos, avaliada em leucócitos mononucleares isolados. Os autores identificaram que as gestantes sem PE apresentavam maior quantidade de receptores funcionais, contribuindo para a vasodilatação fisiológica da gestação, de forma que modificações nestas proteínas podem fazer parte da etiologia genética da PE.

Em gestantes chinesas, não houve diferença na frequência dos genótipos AA, AG e GG (rs1042713) entre mulheres com (n= 108) e sem (n=97) hipertensão gestacional: 24,1%, 25,0% e 50,9% vs. 24,7%, 29,9%, e 45,4%, respectivamente ($p > 0,05$), porém houve diferença na distribuição das frequências genotípicas conforme a gravidade da hipertensão; leve, moderada ou grave (FAN et al., 2005).

Nas células do tecido adiposo, o estímulo aos receptores beta2-adrenérgicos promove sinalização celular para lipólise. Indivíduos homozigotos CC (rs1042714) e AA (rs1042713) podem apresentar menor sensibilidade dos receptores e menor taxa de lipólise (EISENACH; WITTWER, 2010). Uma metanálise incluindo 18 estudos para avaliar o efeito dos polimorfismos rs1042713 e rs1042714 sobre a suscetibilidade à obesidade identificou que há aumento do risco em carreadores do genótipo CG vs. CC (OR 1,16, IC 95% 1,04;1,30, $I^2 = 49\%$, $p = 0,009$) e CG/GG vs. CC (OR 1,2, IC 95% 1,00;1,44, $I^2 = 55\%$, $p = 0,04$) para o rs1042714, porém não houve efeito significativo do rs1042713 (ZHANG; WU; YU, 2014). O efeito dos polimorfismos rs1042713 e rs1042714 ainda não foi investigado em relação ao IMC materno e GPG.

A interação do genótipo ADRB2 com a dieta começou a ser investigada na década de 1990, considerando o consumo dietético de sódio. O efeito da restrição de sódio sobre a pressão arterial é influenciado pelo genótipo; indivíduos carreadores dos alelos A (rs1042713) e C (rs1042714) são mais responsivos à redução do consumo de sal para diminuir a pressão arterial. Considerando uma dieta tipicamente americana, a redução de 150 mmol/dia de sódio para 50 mmol/dia, em indivíduos americanos adultos com pré-hipertensão ou hipertensão estágio 1 não tratada, por 30 dias, promoveu uma redução da PAS diferente entre os

genótipos, variando também conforme a cor da pele. Os indivíduos negros com genótipo GG (rs1042714) não tiveram efeito significativo da intervenção, ao contrário dos indivíduos de cor da pele branca e dos demais genótipos (**Quadro 6**) (SVETKEY et al., 2011).

Quadro 6 – Efeito da restrição dietética de sódio conforme os genótipos do gene ADRB2.

Polimorfismos/genótipos		Diferença da pressão arterial sistólica* (mmHg) após redução de sódio dietético (150 mmol/dia para 50 mmol/dia)		
		Total	Brancos	Negros
rs1042714	GG	-2,8 (-6,2; +0,5)	-3,7 (-7,4; -0,4)	0,81 (-6,6; +8,2)
	GC	-5,7 (-7,4; -4,0)	-4,7 (-7,0; -2,5)	-6,9 (-9,6; -4,3)
	CC	-8,7 (-10,2; -7,3)	-7,1 (-9,8; -4,4)	-9,3 (-11,0; -7,5)
rs1042713	GG	-5,3 (-7,3; -3,3)	-4,1 (-6,8; -1,4)	-6,1 (-9,0; -3,2)
	GA	-7,1 (-8,7; -5,5)	-5,2 (-9,0; -2,3)	-8,9 (-11,2; -6,6)
	AA	-9,3 (-11,5; -7,2)	-8,9 (-13,2; -4,7)	-9,3 (-11,9; -6,7)

ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene. *Resultados apresentados como média e intervalo de confiança de 95%.
Fonte: adaptado de Svetkey et al., 2011.

Em estudo conduzido por Svetkey et al. (2011), a substituição de uma dieta tipicamente americana pelo padrão dietético DASH, por 30 dias, sem restrição de sódio (mantido em 150 mmol/dia), em americanos adultos com pré-hipertensão ou hipertensão estágio 1 não tratada, promoveu redução da PAS e o efeito foi diferente entre os genótipos do ADRB2. A dieta DASH continha, para cada 2000 kcal, 27% de lipídios, 18% de proteínas, 31g de fibras, 4700 mg de potássio, 500 mg de magnésio, 1240 mg de cálcio. A dieta americana tradicional que a precedeu continha, para cada 2000 kcal, 37% de lipídios, 15% de proteínas, 9g de fibras, 1700 mg de potássio, 165 mg de magnésio, 450 mg de cálcio.

Os indivíduos de cor da pele branca com genótipos GG não tiveram efeito significativo da dieta DASH na redução da PAS e os genótipos CC e AA dos polimorfismos rs1042714 e rs1042713, respectivamente, foram mais responsivos à dieta DASH, com maiores reduções da PAS (**Quadro 7**). Estes são justamente os genótipos menos funcionais

do receptor beta 2-adrenérgico, configurando um dos possíveis motivos pelos quais a dieta DASH é especialmente benéfica na prevenção e/ou tratamento da HAS (SVETKEY et al., 2011). Quanto aos mecanismos moleculares de interação entre dieta DASH e genótipo ADRB2, é possível que estejam relacionados também ao sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (SUN et al., 2010).

A maior resistência do genótipo GG (rs1042713) para redução da PAS ao adotar dieta DASH pode estar relacionada ao fato de os indivíduos responderem à intervenção com um efeito contrarregulatório de ativação do SRAA. Os carreadores do alelo A apresentam concentrações inferiores de aldosterona e de atividade de renina plasmática após a intervenção com dieta DASH, e maior redução da PAS, em relação ao genótipo GG. Cabe destacar que o SRAA se encontra fisiologicamente adaptado na gestação para aumento da volemia e sua desregulação parece fazer parte da etiologia da PE (VERDONK et al., 2014), o que fortalece a hipótese de possível interação entre polimorfismos no gene ADRB2, dieta DASH e incidência de SHG.

Quadro 7 – Efeito da dieta DASH sobre a pressão arterial sistólica, conforme os genótipos do gene ADRB2.

Polimorfismos/genótipos		Diferença da pressão arterial sistólica* (mmHg) após adoção de dieta DASH por 30 dias		
		Total	Brancos	Negros
rs1042714	GG	-3,9 (-8,3; +0,5)	-4,1 (-9,0; +0,8)	-2,1 (-11,2; -7,1)
	GC	-4,6 (-7,1; -2,0)	-3,5 (-6,9; -0,1)	-5,5 (-9,4; -1,6)
	CC	-7,0 (-9,1; -4,9)	-6,7 (-10,3; -3,1)	-7,3 (-10,0; -4,6)
rs1042713	GG	-4,4 (-7,1; -1,7)	-3,5 (-7,2; +0,3)	-5,5 (-9,3; -1,7)
	GA	-6,6 (-8,9; -4,3)	-5,7 (-9,0; -2,3)	-7,41 (-10,6; -4,2)
	AA	-7,12 (-10,1; -4,1)	-5,2 (-10,1; -0,3)	-8,2 (-12,1; -4,3)

ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene. *Resultados apresentados como média e intervalo de confiança de 95%.
Fonte: adaptado de Svetkey et al., 2011.

3 JUSTIFICATIVA

As mulheres com DM pré-existente apresentam risco elevado para desfechos adversos da gestação e intervenções nutricionais de caráter preventivo representam estratégia promissora na proteção à saúde materna e infantil. A etiologia multifatorial das complicações obstétricas, envolvendo fatores genéticos e ambientais, merece ser explorada por meio de estudos que avaliem a interação gene-dieta, com objetivo de (1) conhecer os mecanismos fisiológicos envolvidos da gênese das disfunções orgânicas e (2) construir estratégias nutricionais assertivas considerando características genéticas, no âmbito da nutrição personalizada.

O projeto é pioneiro em sua proposta, apresentando caráter inovador tanto no que se refere à intervenção com dieta DASH, traduzida e adaptada para as gestantes brasileiras com DM pré-existente, quanto à avaliação da influência de polimorfismos genéticos frequentes na população sobre a intervenção proposta.

A partir dos resultados, pretende-se compreender mecanismos moleculares que influenciam o efeito da dieta sobre desfechos obstétricos e perinatais e esclarecer questões associadas ao efeito diferenciado de intervenções nutricionais em grupos com características semelhantes, que podem ser, pelo menos parcialmente, explicadas por variações genéticas.

O projeto consolida a inserção da investigação na área da Nutrigenética em ensaios clínicos do GPSMI/UFRJ. A produção científica do grupo, tradicionalmente, sustenta a elaboração e a revisão periódica dos protocolos assistenciais do Serviço de Nutrição da Maternidade Escola da UFRJ. O número de gestantes com DM pré-existente recebidas no ambulatório da maternidade é crescente e a assistência especializada é decisiva para os resultados maternos e infantis. Dessa forma, expandir a abrangência das investigações e buscar compreensão de mecanismos relacionados aos desfechos clínicos verificados na população atendida representa a possibilidade de importante avanço na assistência nutricional pré-natal especializada a mulheres em gestação de alto risco.

4 HIPÓTESE

O efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente é diferente dependendo dos polimorfismos nos genes FTO e ADRB2.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar a influência de polimorfismos nos genes FTO e ADRB2 no efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente.

5.2 Objetivos específicos

- a) *Manuscrito 1:* investigar os polimorfismos nos genes FTO (rs9939609 e rs17817449) e ADRB2 (rs1042713 e rs1042714) como fatores de risco para o GPG excessivo em mulheres com DM pré-gestacional usando dois tipos de dieta: tradicional e DASH;
- b) *Manuscrito 2:* investigar características dietéticas, fenotípicas e genotípicas influenciando o desenvolvimento de SHG em mulheres com DM pré-gestacional usando dois tipos de dieta: tradicional e DASH;
- c) *Manuscrito 3 (brief communication):* investigar a associação entre polimorfismos relacionados à obesidade nos genes FTO e ADRB2 e o IMC pré-gestacional em mulheres brasileiras com DM1 e DM2.

6 MÉTODOS

6.1 Delineamento e local do estudo

O presente estudo faz parte da pesquisa “Efeito da Dieta DASH no Resultado Perinatal de Gestantes com Diabetes Mellitus” – DASDIA (DASh diet for pregnant women with DIAbetes), um ensaio clínico randomizado, com dois braços paralelos, simples-cego, desenvolvido na Maternidade Escola da UFRJ, de 2016 a 2020.

A Maternidade Escola da UFRJ é uma maternidade pública situada no município do Rio de Janeiro/RJ, referência para o atendimento pré-natal, parto e puerpério de gestantes com DM. A maternidade está ligada ao Sistema Único de Saúde (SUS) e recebe gestantes encaminhadas pelo SISREG (Sistema de Centrais de Regulação), oferecendo atendimento gratuito por equipe multiprofissional composta por obstetras, endocrinologistas, nutricionistas, psicólogos, enfermeiros e técnicos de enfermagem. Os exames de rotina previstos no acompanhamento pré-natal da gestação de alto risco são realizados no local.

6.2 População e amostra

A população do estudo foi constituída por gestantes com DM1 ou DM2, que realizaram a assistência pré-natal no local de estudo. Os critérios de inclusão foram: idade cronológica ≥ 18 anos na concepção, gestação de feto único, idade gestacional <28 semanas, não fumantes, não usuárias de bebidas alcoólicas. As gestantes com hipertensão crônica foram incluídas, mas somente as sem diagnóstico de SHG, em tratamento com metildopa e com PAS <160 mmHg e PAD < 110 mmHg. As gestantes com hipotireoidismo controlado (TSH 0,1-2,5 mUI/L no primeiro trimestre ou 0,3-3,0 mUI/L no segundo trimestre), em tratamento com levotiroxina, foram incluídas.

Os critérios de não elegibilidade foram a presença de complicações do DM (nefropatia, retinopatia), doenças sexualmente transmissíveis (sífilis, herpes genital, papiloma vírus humano), doenças psiquiátricas (ansiedade, depressão, transtornos alimentares). Foram excluídas do estudo as gestantes que não fizeram a coleta de saliva para genotipagem e foram consideradas perdas de seguimento as que tiveram o atendimento de pré-natal descontinuado no local de estudo (por não comparecimento às consultas ou encaminhamento para outra instituição).

Todas as gestantes com DM1 ou DM2 acompanhadas no local de estudo foram orientadas para o tratamento com insulina, prescrito individualmente pela equipe médica. As gestantes receberam a insulina e os insumos para monitorização da glicemia capilar gratuitamente, bem como o treinamento necessário para autocuidado em DM. As mulheres que iniciaram o pré-natal antes das 16 semanas de gestação receberam prescrição médica para o uso diário de aspirina na dose de 100 mg/dia, como medida de prevenção contra o desenvolvimento de PE (ACOG, 2018; www.me.ufrj.br).

Devido à pandemia de COVID-19, houve uma interrupção das atividades presenciais da pesquisa, em março de 2020. As consultas com as gestantes já incluídas no projeto puderam prosseguir devido a Resolução CFN nº 646, de 18 de março de 2020, na qual o Conselho Federal de Nutricionistas (CFN) permitiu que a assistência nutricional fosse realizada por teleconsultas. Assim, as gestantes que já estavam participando do projeto seguiram o acompanhamento com as nutricionistas do projeto na modalidade de teleconsulta, enquanto o atendimento médico das consultas de pré-natal de manteve presencial. Com o início da pandemia de COVID-19, não foram incluídas mais gestantes no projeto.

Oitenta e sete gestantes participaram do ensaio clínico DASDIA. Destas, 70 tiveram os dados completos necessários para as análises envolvendo nutrigenética propostos na presente tese (dados do acompanhamento na pesquisa e amostra de saliva para genotipagem). Assim, para cada objetivo do presente estudo, o poder estatístico foi calculado *a posteriori*.

6.3 Grupos de estudo e coleta de dados

A captação de gestantes para o projeto ocorreu diariamente no ambulatório de assistência pré-natal da Maternidade Escola da UFRJ, primeiramente por meio de consulta ao prontuário para verificação dos critérios de elegibilidade e, em seguida, convite à gestante para participação na pesquisa. As gestantes que atenderam aos critérios de elegibilidade e aceitaram participar da pesquisa foram alocadas para um dos grupos de estudo (1) Grupo Controle (GC, orientação nutricional com base em dieta tradicional, já praticada no local de estudo) ou (2) Grupo DASH (GD, orientação nutricional com base em dieta DASH). A alocação nos grupos de estudo foi randomizada, utilizando uma lista de números aleatórios elaborada no software *Microsoft Office Excell* ® 2007. A lista foi consultada na ordem da inclusão das gestantes no estudo; se o número fosse ímpar, eram alocadas para o GC e se o número fosse par, alocadas para o GD. Como o estudo foi simples cego, as participantes não foram informadas sobre o grupo de estudo em que foram incluídas na randomização.

A partir da inclusão no estudo, foram agendadas seis consultas com nutricionista, com intervalo de quinze dias entre as duas primeiras e intervalo máximo de um mês entre as consultas de acompanhamento, em datas adequadas ao calendário de pré-natal por idade gestacional adotado na maternidade (consultas mensais até 32 semanas, quinzenais de 32 a 36 semanas e semanais a partir de 37 semanas), coincidindo com as datas de consultas de outras especialidades.

A coleta de dados sociodemográficos, história obstétrica e história clínica pessoal e familiar foi inicialmente feita em prontuário e complementada em entrevistas face a face durante o acompanhamento nutricional. Os dados foram registrados no protocolo de pesquisa (**Apêndice A**).

6.4 Avaliação antropométrica e ganho de peso gestacional

O peso corporal (kg) foi medido nas consultas do pré-natal, pela equipe de enfermagem, utilizando balança eletrônica tipo plataforma da marca Balmak®. A medida de estatura (m) foi realizada na primeira consulta, por meio de estadiômetro acoplado à balança. O peso pré-gestacional (kg) foi autorreferido (CARRILHO et al., 2020), correspondente ao peso (kg) de até dois meses antes da concepção. As medidas de peso ao longo da gestação, estatura (m) e peso pré-gestacional (kg) foram consultadas no cartão da gestante.

O IMC pré-gestacional (peso pré-gestacional/estatura²) foi classificado conforme preconizado pela OMS (1995) e a programação do GPG semanal e total foi realizada de acordo com a recomendação do IOM (2009, 2013), reavaliado a cada consulta com nutricionista (**Quadro 2**). O GPG total (kg) foi considerado como a diferença entre peso medido na internação para o parto e o peso pré-gestacional. A adequação do ganho de peso (insuficiente, adequado ou excessivo) foi avaliada conforme os critérios do IOM (2009) para o GPG total (**Quadro2**).

6.5 Intervenção dietética

Em ambos os grupos de estudo, o Valor Energético Total (VET) diário foi estimado individualmente, considerando idade, peso e nível de atividade física, bem como o adicional energético da gestação personalizado para projeção do ganho de peso gestacional recomendado (**Quadro 8**). Para o cálculo do VET de gestantes com obesidade pré-gestacional, não foi incluído o adicional energético, exceto em casos de perda de peso

persistente. A proporção de macronutrientes foi de 45 a 55% do VET composto por carboidratos, 15 a 20% do VET composto por proteínas e 25 a 30% do VET composto por lipídios, similar para GC e GD.

Quadro 8 – Estimativa do Valor Energético Total (VET) para elaboração do plano alimentar.

VET = TMB X NAF (+ adicional energético da gestação)
TMB – taxa metabólica basal
18 a 30 anos: $(14,818 \times \text{peso}) + 486,6$
30 a 60 anos: $(8,12 \times \text{peso}) + 845,6$
NAF – nível de atividade física
Estilo de vida sedentário: 1,40 – 1,69 (1,53)
Estilo de vida ativo ou moderadamente ativo: 1,70 – 1,99 (1,76)
Estilo de vida vigoroso ou moderadamente vigoroso: 2,00 – 2,40 (2,25)
Adicional energético da gestação
1 kg = 6417 kcal

VET: Valor Energético Total, TMB: Taxa Metabólica Basal, NAF: nível de atividade física.

Fonte: FAO, 2004; Saunders et al., 2012.

Características da dieta tradicional adotada na orientação do grupo controle (GC): plano alimentar fracionado em 5 a 6 refeições diárias, com horários regulares, já utilizado na rotina da maternidade. As gestantes receberam o plano alimentar organizado como porções de grupos alimentares em cada refeição, acompanhado de uma lista de substituição de alimentos (**Apêndice B**). A distribuição das quantidades de porções por grupos alimentares foi feita de acordo com o VET calculado.

Características da dieta DASH (GD): plano alimentar fracionado em 5 a 6 refeições diárias, com horários regulares. A diferença entre as dietas consistiu no fato que a dieta DASH propõe maior consumo de frutas, vegetais, grãos integrais, produtos lácteos com baixo teor de lipídios, menor teor de gordura saturada e colesterol, maior consumo de gordura poli-insaturada e a baixa ingestão de farinhas refinadas e açúcar (**Apêndice C**). A distribuição das quantidades de porções por grupos alimentares foi feita de acordo com o VET calculado. Esse modelo foi elaborado pelo grupo de pesquisa, após tradução e adaptação da dieta DASH para a cultura brasileira (**Quadro 9**) (SAUNDERS et al., 2021).

Para aplicação prática, foram pré-calculadas as distribuições dos planos alimentares das dietas tradicional e DASH variando de 2000 a 2800 kcal, para serem implementadas no

momento do atendimento. Ambas as dietas puderam ser orientadas utilizando o método de contagem de carboidratos, quando este era de preferência da gestante. Em uma amostra de gestantes com DM atendidas na mesma maternidade, o método de contagem de carboidratos não diferiu do método orientado por grupos alimentares em relação à qualidade da alimentação (da SILVA et al., 2019).

Quadro 9 – Características da dieta tradicional e da dieta DASH, considerando plano alimentar de 2100 kcal diárias.

	Dieta Tradicional	Dieta DASH
Quantidade de porções por grupos alimentares e quantidade de calorias por porção		
Frutas (40 vs. 60kcal)	4	5
Vegetais (36 kcal)	2 + folhas	2 + folhas
Pães (130 kcal) /cereais (74 kcal)	8	6,5 (integrais)
Feijão (135 kcal)	1,5	2
Carnes (210 vs. 170 kcal)	2	2 (frango/peixe)
Leite (120 vs. 72 kcal)	3	3 (desnatado)
Sementes/oleaginosas (57 kcal)	-	1
Gorduras (45 kcal)	4	5
Principais diferenças na composição nutricional entre as dietas		
AG saturados (% do VET)	9,7%	7,2%
AG monoinsaturados (% do VET)	8,5%	9,2%
AG poli-insaturados (% do VET)	2,8%	5,6%
Fibras	42g	55g
Cálcio	1500 mg	2280 mg
Magnésio	315 mg	496 mg
Potássio	4081 mg	4418 mg
Sódio	2400 mg	2400 mg

AG: Ácidos Graxos. VET: valor energético total diário.

Fonte: adaptado de Saunders et al., 2021.

Para melhorar a adesão aos planos alimentares propostos, as gestantes alocadas para o GC receberam gratuitamente, em cada consulta, um *kit* contendo uma lata de leite semidesnatado (300 g) e um pacote de aveia (200 g), enquanto as gestantes alocadas para o GD receberam um *kit* contendo uma lata de leite desnatado (280 g), um pacote de semente de

linhaça (200 g), um pacote de castanhas (150 g). As gestantes de ambos os grupos receberam uma garrafa de azeite extravirgem (500 ml) na primeira consulta.

Por meio de entrevista e consulta ao prontuário, foram verificadas e registradas no protocolo de pesquisa informações sobre intercorrências da gestação, sintomatologia digestiva, ocorrência de picamalácia ou cegueira noturna gestacional, presença de edema e uso de medicamentos ou suplementos, de forma que as queixas e condições clínicas foram consideradas no manejo nutricional de todas as gestantes, independente do grupo de estudo. O plano alimentar foi reavaliado a cada consulta, considerando ajustes necessários para adequação da projeção do GPG.

6.6 Adesão aos planos alimentares

A adesão aos planos alimentares propostos em ambos os grupos de estudo foi avaliada utilizando recordatórios alimentares de 24h e um escore de adesão desenvolvido por Della-Líbera et al. (2011), que varia de 0 a 4 pontos conforme: [1] quantidade de alimentos ingeridos em relação às porções orientadas; [2] qualidade da alimentação (grupos de alimentos ingeridos em relação à proposta do plano alimentar); [3] padrão das refeições (número e horários das refeições realizadas em relação à distribuição do plano alimentar) e [4] adequação do ganho de peso em relação à consulta anterior (considerado adequado até 20% a mais ou a menos do programado). O escore de adesão foi estratificado em baixa a moderada (< 2 pontos) e alta (≥ 2 pontos). A pontuação considerada para as análises foi a verificada na consulta mais próxima ao parto, refletindo o maior tempo possível de exposição à intervenção dietética.

O consumo de cálcio foi avaliado pelo recordatório alimentar de 24h e, uma vez identificado o baixo consumo (< 900 mg/dia) em mulheres com ≥ 20 semanas de gestação, foi prescrita a suplementação de carbonato de cálcio na dose de 500 mg/dia para complementar a ingestão, em ambos os grupos de estudo, como medida de prevenção à PE (HOFMEYR et al., 2018; OMS 2016). A suplementação foi acordada com o médico da equipe para ajuste dos horários dos outros suplementos contendo sulfato ferroso, evitando interação prejudicial à absorção dos micronutrientes.

6.7 Avaliação da pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação

As medidas da pressão arterial (PAS e PAD) foram realizadas nas consultas de pré-natal, pela equipe de enfermagem, utilizando esfigmomanômetro aneroide, com a gestante sentada após repouso mínimo de 15 minutos. As medidas foram registradas no cartão da gestante, onde foram consultadas para inclusão no formulário de pesquisa. Todas as medidas disponíveis no cartão da gestante e no prontuário médico foram coletadas para a pesquisa. A PAM foi calculada com a fórmula $PAM = [PAS + (2 \times PAD)] / 3$.

O diagnóstico das SHG seguiu os critérios recomendados internacionalmente (ACOG, 2020; **Quadro 3**), conforme os protocolos da Maternidade Escola da UFRJ (2020, online), realizado pela equipe médica e registrado em prontuário. As mulheres com HAS prévia à gestação e que apresentaram proteinúria foram diagnosticadas com PE sobreposta. O diagnóstico das SHG é de atribuição médica, portanto os dados foram consultados em prontuário e confirmados com os médicos da equipe.

6.8 Coleta de material biológico e análise genética

Para a análise genética, solicitou-se a cada participante da pesquisa uma amostra de saliva. A coleta foi realizada preferencialmente na primeira consulta do acompanhamento, por meio de bochecho com 5 ml de água miliQ, depositado em tubo falcon de 15 ml e adicionado de solução TNE (3 ml) para conservação. A extração de DNA das células bucais seguiu o protocolo validado por Aidar e Line (2007). O tempo máximo entre coleta do material e extração de DNA foi de 15 dias, sendo o material mantido sob refrigeração a 5°C nesse período. Após a extração, as amostras foram congeladas para posterior quantificação de DNA (análise da qualidade da amostra) e genotipagem.

As amostras foram consideradas viáveis para genotipagem quando continham pelo menos 5 µg de DNA. As amostras foram diluídas com água MiliQ em alíquotas de 20 µl para padronizar as concentrações [$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$, onde C_1 e V_1 são a concentração e o volume iniciais e C_2 e V_2 são a concentração e o volume finais]. Os ensaios foram preparados em placas de 96 amostras, com reações em volumes de 10 µl contendo DNA (2 µl), Master Mix (5 µl), sonda TaqMan (0,25 µl) e MiliQ (2,75 µl). As sondas TaqMan utilizadas em cada ensaio foram específicas para discriminação alélica dos polimorfismos em estudo (rs9939609 T/A, rs17817449 T/G, rs1042713 G/A e rs1042714 C/G), utilizando o sistema de *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR em tempo real) em equipamento *Step One Plus™*,

adotando-se as recomendações de número de ciclos e temperaturas recomendados pelo fabricante. Foram incluídas nas placas uma amostra de controle positivo e uma amostra de controle negativo. Os gráficos de discriminação alélica foram obtidos por meio de software automatizado (*AppliedBiosystems*, Foster City, CA), permitindo a identificação dos genótipos. As análises genéticas foram realizadas no Laboratório de Genética Humana da Fiocruz.

7 ANÁLISES DOS DADOS

7.1 Variáveis estudadas

As variáveis estudas encontram-se descritas no **Quadro 10**.

Quadro 10 – Variáveis estudadas.

Variável	Unidade de medida ou categorização
Ganho de peso gestacional	kg [peso na admissão para o parto – peso pré-gestacional]
Ganho de peso gestacional excessivo	Sim / Não [ganho de peso gestacional > 18 kg, >16 kg, > 11,5 kg, e > 9 kg para mulheres com baixo peso, peso adequado, sobre peso e obesidade pré-gestacional, respectivamente].
IMC pré-gestacional	kg [peso pré-gestacional/altura ²] Baixo peso (IMC < 18,5 kg/m ²), peso adequado (IMC 18,5 a 24,9 kg/m ²), sobre peso (IMC 25 a 29,9 kg/m ²) e obesidade (IMC ≥ 30 kg/m ²).
PAS, PAD, PAM	mmHg, medidas ao longo da gestação $PAM = [PAS + (2 \times PAD)] / 3$
SHG	Sim (hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia, eclâmpsia, nenhuma)/ Não
Tipo de dieta	Dieta tradicional / Dieta DASH
Tipo de DM	DM1 / DM2
rs9939609 FTO	TT / AT / AA
rs17817449 FTO	TT / GT / GG
rs1042713 ADRB2	GG / AG / AA
rs1042714 ADRB2	CC / CG / GG

IMC: índice de massa corporal, PAS: pressão arterial sistólica, PAD: pressão arterial diastólica, PAM: pressão arterial média, SHG: síndromes hipertensivas da gestação, DM: diabetes mellitus, FTO: *fat mass and obesity-associated gene*, ADRB2: *adrenoceptor beta 2 gene*.

As covariáveis avaliadas incluíram: idade (anos), cor da pele (branca/preta/parda/amarela, autorreferida), escolaridade (ensino básico, médio ou superior), situação marital (casada/solteira), idade gestacional (semanas, calculada a partir da primeira ultrassonografia realizada, obtida na inclusão do estudo < 28 semanas), emprego (sim/não), renda per capita (renda familiar total dividida pelo número de pessoas da família, em US\$), condições de moradia (adequada quando atende todos os critérios: coleta regular de lixo, água encanada e sistema de esgoto/inadequada quando um dos critérios estava ausente), doença crônica pré-existente (sim (hipotireoidismo ou hipertensão)/não), paridade (número de partos prévios), tempo de diagnóstico do DM (anos, autorreferido), HbA1c (%), atividade física (ativa/irregularmente ativa/sedentária, versão curta do IPAQ, Matsudo et al., 2001) – variáveis obtidas dos prontuários médicos e complementados em entrevista com as pesquisadoras, usando questionários estruturados.

O consumo energético no *baseline* foi obtido a partir de recordatório de 24h (valor energético total – VET, kcal); as porções referidas foram convertidas em gramas para quantificar as quilocalorias usando a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO/UNICAMP, 2011) e tabela de composição de alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, *online*).

7.2 Análises estatísticas

A normalidade das variáveis numéricas foi testada por análise gráfica de histograma e medidas de assimetria e curtose. Na análise exploratória dos dados, as variáveis numéricas foram apresentadas como mediana e intervalo interquartílico e as variáveis categóricas foram apresentadas como frequências absolutas e relativas. O teste Qui-quadrado foi aplicado para comparação das distribuições das frequências entre grupos, e o teste Exato de Fisher foi adotado quando as condições para o teste Qui-quadro não foram satisfeitas (número de caselas com frequência esperada inferior a 5). Os testes U de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis foram empregados para comparação das medianas entre 2 ou 3 grupos, respectivamente.

A análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizada para verificação do padrão de distribuição alélica na amostra em relação ao esperado na população, por meio do teste Qui-quadrado de aderência. As análises foram realizadas considerando, para cada polimorfismo, o modelo aditivo (comparação entre as três possibilidades de genótipos, com o homozigoto de maior frequência como referência), modelo dominante (comparação entre não carreadores e

carreadores do MAF, com os não carreadores como referência), modelo recessivo (comparação entre homozigotos para o MAF e os demais genótipos, com os homozigotos para o MAF como referência), exceto quando não houve presença de algum dos grupos para comparação.

O desequilíbrio de ligação (*linkage disequilibrium*) foi avaliado para cada gene usando o ponto de corte $r^2 \geq 0,8$. As frequências dos haplótipos e a determinação da fase alélica foram estimados por algoritmo de maximização da expectativa e a incerteza da estimativa foi incluída nos modelos estatísticos. Os haplótipos mais comuns em nossa população foram considerados como referência. As análises estatísticas foram realizadas nos softwares R versão 4.1.1 e SPSS versão 20.0, adotando $p < 0,05$ para significância estatística.

Manuscrito 1: FTO and ADRB2 genetic polymorphisms are risk factors for earlier excessive gestational weight gain in pregnant women with pregestational diabetes mellitus: Results of a randomized nutrigenetic trial

O tempo até o evento GPG excessivo foi estimado por interpolação linear, assumindo um aumento linear no ganho de peso entre diferentes medidas. As incidências de GPG excessivo foram calculadas com base no tempo de seguimento entre a data provável da concepção à data provável do desfecho. Incidências e intervalos de confiança de 95% foram estimados de acordo com os erros padrão, calculados por uma distribuição Gamma. As gestantes que não apresentaram o desfecho foram consideradas desde a data provável da concepção até a data do parto.

Os resultados das análises de tempo-até-o-evento foram apresentados na forma de *hazard ratios* (HR) com os intervalos de confiança de 95%, e os riscos de progressão para o evento foram estimados por modelos de Cox. A suposição de proporcionalidade dos riscos foi testada usando análises de correlação e testes Qui-quadrado baseados em resíduos escalonados de Schoenfeld. Os efeitos dos genótipos sobre o desfecho foram ajustados para as demais características com associação sugestiva com o desfecho ($p \leq 0,1$) e apresentados como aHR (*adjusted hazard ratios*).

Manuscrito 2: Dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of hypertensive disorders of pregnancy in women with pregestational diabetes: a randomized controlled clinical trial

Para analisar as medidas longitudinais de PAS, PAD e PAM, foram utilizados modelos de efeito misto, considerando os tipos de dieta, os genótipos e a interação de ambos. A modelagem considerou uma função *spline* com dois nós. O período da gestação foi dividido em quatro segmentos (< 6,5 semanas, 6,5 a 19,5 semanas, 19,5 a 32,5 semanas e > 32,5

semanas) e foram estimadas as médias e intervalos de confiança de 95%, com todas as outras variáveis no modelo múltiplo mantidas nos seus valores de média ou proporções iguais, na concepção, semana 13, semana 27 e no dia do parto. Os contrastes foram construídos a partir das estimativas das médias e efeitos marginais. Os p-valores foram corrigidos pelo número de comparações em pares, usando o método Holm-Sidak. O modelo foi ajustado para as variáveis com associação sugestiva com o desfecho ($p \leq 0,1$)

As incidências de hipertensão gestacional ou PE foram calculadas com base no tempo de seguimento entre a data provável da concepção à data provável do desfecho. Incidências e intervalos de confiança de 95% foram estimados de acordo com os erros padrão, calculados por uma distribuição Gamma. As gestantes que não apresentaram o desfecho foram consideradas desde a data provável da concepção até a data do parto.

Os resultados das análises de tempo-até-o-evento foram apresentados na forma de *hazard ratios* (HR) com os intervalos de confiança de 95%, e os riscos de progressão para o evento foram estimados por modelos de Cox. A suposição de proporcionalidade dos riscos foi testada usando análises de correlação e testes Qui-quadrado baseados em resíduos escalonados de Schoenfeld. Os efeitos dos genótipos sobre o desfecho foram ajustados para as demais características com associação sugestiva com o desfecho ($p \leq 0,1$) e apresentados como aHR (*adjusted hazard ratios*).

Manuscrito 3: Pregestational BMI in Brazilian women with diabetes mellitus according to polymorphisms in FTO and ADRB2 genes: a brief communication.

Os testes U de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis foram empregados para comparação do IMC pré-gestacional entre os tipos de DM e entre os genótipos. O teste Qui-quadrado/Exato de Fisher foi aplicado para testar associação entre os tipos de DM, genótipos e classes de IMC.

8 QUESTÕES ÉTICAS

A pesquisa foi planejada e desenvolvida respeitando-se os aspectos éticos previstos nas Resoluções 466/2012 (BRASIL, 2012b) e 510/2016 (BRASIL, 2016), aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola da UFRJ em julho de 2015 (CAAE – 46913115.0.0000.5275, Anexo A) e registrada no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos – Rebec (RBR-4tbgv6). Todas as gestantes que participaram do estudo assinam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e receberam uma via do documento assinado pela coordenadora do projeto, constando os telefones de contato das pesquisadoras da equipe para esclarecimento de dúvidas.

9 RESULTADOS

Os resultados da presente tese foram organizados para apresentação em três manuscritos:

- a) Manuscrito 1: *FTO and ADRB2 genetic polymorphisms are risk factors for earlier excessive gestational weight gain in pregnant women with pregestational diabetes mellitus: Results of a randomized nutrigenetic trial;*
- b) Manuscrito 2: *Dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of hypertensive disorders of pregnancy in women with pregestational diabetes: a randomized controlled clinical trial;*
- c) Manuscrito 3: *Pregestational BMI in Brazilian women with diabetes mellitus according to polymorphisms in FTO and ADRB2 genes: a brief communication.*

Manuscrito 1

FTO and ADRB2 genetic polymorphisms are risk factors for earlier excessive gestational weight gain in pregnant women with pregestational diabetes mellitus:

Results of a randomized nutrigenetic trial

Submission to *Nutrients*,

Special Issue "*Gene Polymorphism and Nutrition: Relationships with Chronic Disease*"

**FTO and ADRB2 genetic polymorphisms are risk factors for earlier excessive gestational weight gain in pregnant women with pregestational diabetes mellitus:
Results of a randomized nutrigenetic trial**

Abstract: Excessive gestational weight gain (GWG) is associated with increased risk of maternal and neonatal complications. We investigated obesity-related polymorphisms in the FTO gene (rs9939609, rs17817449) and ADRB2 (rs1042713, rs1042714) as candidate risk factors concerning excessive GWG in pregnant women with pregestational diabetes. This nutrigenetic trial, conducted in Brazil, randomly assigned 70 pregnant women to one of the groups: traditional diet ($n = 41$) or DASH diet ($n = 29$). Excessive GWG was the total weight gain above the upper limit of the recommendation, according to the Institute of Medicine guidelines. Genotyping was performed using real-time PCR. Time-to-event analysis was performed to investigate risk factors for progression to excessive GWG. The type of diet had not a significant interaction with the genotypes on the GWG and did not modify the risk for excessive GWG. AT carriers of rs9939609 (FTO) and AA carriers of rs1042713 (ADRB2) had higher risk of earlier exceeding GWG compared to TT (aHR 2.44; CI 95% 1.03-5.78; $p=0.04$) and GG (aHR 3.91; CI 95% 1.12-13.70; $p=0.03$) genotypes, respectively, as the haplotype rs9939609:rs17817449 (AG) (aHR 1.79; CI 95% 1.04-3.06; $p=0.02$). Regardless the type of diet, FTO and ADRB2 polymorphisms were risk factors for earlier excessive GWG.

Keywords: gestational weight gain; ADRB2; FTO; DASH diet; diabetes mellitus; nutrigenetics.

1. Introduction

Excessive gestational weight gain (GWG) affects half of pregnancies worldwide [1] and nearly 40% of pregnancies in Brazil [2]. In women with pregestational diabetes mellitus (DM), excessive GWG is associated with a higher risk of preterm delivery, cesarean section, large-for-gestational-age newborn, macrosomia, neonatal distress, and neonatal malformations [3,4]. In addition to increasing the immediate risk of perinatal complications, excessive GWG is associated with short- and long-term metabolic consequences for mothers and children, and probably plays a key role in the metabolic programming of chronic diseases in the offspring [5].

The GWG recommendations [6,7] are based on the pre-pregnancy body mass index (BMI), but genetics, dietetics, and environmental factors appear to be involved in significant interindividual variation in weight gain during pregnancy [8]. The fat mass and obesity-associated (FTO) gene is located on chromosome 16, and common polymorphisms in the first intron are strongly associated with obesity. FTO encodes a protein with demethylase function, and is highly expressed in the hypothalamus, particularly in the arcuate nucleus, suggesting that this gene plays an essential role in energy balance and body weight control [9].

The polymorphisms rs9939609 (T/A) and rs17817449 (T/G) in FTO are associated with body weight, BMI, and extreme obesity in the Brazilian population [10]. The A allele of the polymorphism rs9939609 is associated with higher GWG in North America [11,12] and Spanish women [13], but not with excessive GWG in Brazilian women [14]. Despite the association of rs17817449 (GG) with higher maternal BMI in pregnant Iraqi women [15], its relationship with GWG has not yet been explored in the literature.

The adrenoceptor beta 2 (ADRB2) gene is located on chromosome 5, and some polymorphisms in this gene have been consistently associated with a predisposition to obesity due to its expression in adipose tissue and its role in lipolysis and energy balance [16]. Two common polymorphisms in ADRB2 are the most studied, rs1042713 (G/A) and rs1042714 (C/G), although the results are quite divergent, with only rs1042714 (CG/GG) associated with obesity in a meta-analysis [17]. The relationship between ADRB2 polymorphisms and GWG has not yet been explored.

Interventions that focus on a healthy diet have been found to be effective in optimizing GWG [5]. Pregnant women with DM especially benefit from nutritional guidance to prevent excessive GWG and related adverse outcomes, which are more common in high-risk pregnancies [18]. The Dietary Approach to Stop Hypertension (DASH) diet encourages the consumption of fruits, vegetables, fat-free/low-fat dairy, whole grains, nuts, and legumes, as well as limits the intake of saturated fat, cholesterol, refined sugar, sodium, red, and processed meats [19]. The DASH diet was originally proposed to control hypertension; however, in recent years, it has been recommended for pregnant women with DM, obesity, and hypertension to reduce the risk of obstetric and perinatal complications [20,21].

However, the effects of diet on body physiology vary greatly among individuals, which may be partially explained by nutrigenetic interactions. The association between FTO and ADRB2 genetic polymorphisms and obesity phenotypes appears to be modified by diet composition [22-24]. Personalized nutrition may benefit individuals genetically predisposed to have a higher BMI using a dietary pattern that minimizes risk [25]. Studies are needed to

elucidate the association between genetic variants, diet, and GWG, especially for high-risk pregnancies, such as in mothers with pregestational DM.

The aim of this study was to investigate the FTO genetic polymorphisms (rs9939609, rs17817449) and the ADRB2 genetic polymorphisms (rs1042713, rs1042714), as candidate genetic risk factors for excessive GWG in pregnant women with pregestational DM using two different types of diets: a traditional diet, and the DASH diet, as well as to ascertain nutrigenetic interactions associated to the genetic make-up.

2. Materials and Methods

2.1 Subjects

The participants were pregnant women who were enrolled in the DASDIA (DASH diet for pregnant women with DIAbetes) randomized controlled clinical trial carried out at the Maternity School of the Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, with the aim of evaluating the effect of the DASH diet on perinatal outcomes in pregnant women with pregestational DM (2016-2020, Brazilian Clinical Trials Registry RBR-4tbgv6). Eighty-seven pregnant women participated in the DASDIA trial, of whom 70 were included in the present study because valid data were available for performing the nutrigenetic analyses.

The participants were pregnant women with pregestational DM, 18 years or older, less than 28 weeks of pregnancy at the time of inclusion in the study, single fetus, no alcohol, tobacco, or drug use, no sexually transmitted disease (e.g., syphilis, genital herpes, HPV), no psychiatric diseases (e.g., anxiety, depression, eating disorders), and no DM complications (e.g., diabetic nephropathy or retinopathy). Pregnant women with treated and controlled hypothyroidism (TSH 0.1-2.5 mUI/L in the first trimester or 0.3-3.0 mUI/L in the second trimester, using levothyroxine) or chronic hypertension (systolic blood pressure <160 mmHg and diastolic blood pressure <110, using methyldopa, without SHG) were included. The eligible participants were randomly assigned in a 1:1 ratio to one of two parallel study groups: traditional diet or DASH diet, using a computer-generated list of random numbers prepared by the head investigator. The participants were blinded to allocation.

The research was approved by the Ethics Committee of the Maternity School of Federal University of Rio de Janeiro (CAAE – 46913115.0.0000.5275; July/2015).

2.2 Pregestational diabetes diagnosis and treatment

Women with type 1 or 2 DM were included in this study, with a pre-pregnancy diagnosis or diagnosed during pregnancy, after presenting with a fasting glucose level ≥ 126

mg/dL [18]. Women with gestational DM were excluded from the study. Following the institutional protocol, all participants were treated with insulin therapy, which was prescribed by physicians according to individual needs.

2.3 Diet groups and nutritional guidance

The participants were randomly assigned to one of two groups of nutritional guidance: a traditional diet, or the DASH diet. Women in both groups received individual nutritional guidance from a registered dietitian from the date of inclusion in the study until the last prenatal appointment in six scheduled visits. The time of intervention was defined as the time between inclusion in the study and childbirth.

Both traditional and DASH diets were designed to contain 45%–55% carbohydrates, 15%–20% protein, and 25%–30% total fat. However, the DASH diet was richer in fruits, vegetables, whole grains, and low-fat dairy products, and included a serving of nuts per day. The original North American version of the DASH diet was translated and adapted for the DASDIA trial, considering the characteristics of Brazilian pregnant women with DM, as detailed elsewhere [26].

The main differences in the composition of the traditional and DASH diets based on the 2100 kcal meal plan are provided in **Chart 1**. The traditional diet was a healthy diet currently prescribed for all pregnant women with DM-attending prenatal care at the maternity hospital. The daily energy intake was calculated individually in order to formulate recommendations according to age, physical activity, pre-pregnancy BMI, and recommended GWG for each woman. All participants received a meal plan with a list of equivalents based on the traditional or DASH diet, which was explained in detail and revised at each appointment with the registered dietitian, with reinforcement of the nutritional orientations for both diets until the last visit [26].

Adherence to the diets was assessed using a 24-hour dietary recall and applying a tool with four evaluation items, which was scored from 0 to 4 points according to: (1) quantity of food consumed—portions; (2) food groups consumed—variety; (3) consumed meals—number and time; and (4) gestational weight gain – adequate when no more than 20% less or above the recommended amount [27]. The adherence score was stratified into low-to-moderate adherence (< 2 points) and high adherence (≥ 2 points). For the present analyses, we considered the adherence score obtained at the visit closest to childbirth to reflect the longest possible time of exposure to the intervention.

To improve adherence, participants in the traditional diet group received a bottle of extra virgin olive oil (500 ml) at the first visit, a can of powdered semi-skimmed milk (300 mg), and a pack of oats (250 mg) at each subsequent visit, while the participants in the DASH diet group received a bottle of extra virgin olive oil (500 ml) at the first visit, a can of powdered skimmed milk (280 mg), and a pack of nuts (150 mg) and seeds (200 mg) at each subsequent visit.

2.4 Outcome

The main outcome was excessive GWG (kg). The recommended GWG was defined according to the Institute of Medicine guidelines [6,7], considering the pre-pregnancy BMI: underweight 12.5 to 18 kg, normal weight 11.5 to 16 kg, overweight 7 to 11.5 kg, and obesity 5 to 9 kg. Excessive GWG was the total weight gain of pregnancy exceeding the maximum amount recommended by IOM [6,7] according to pre-pregnancy BMI: GWG > 18 kg, >16 kg, > 11.5 kg, and > 9 kg for underweight, normal weight, overweight, and obese women, respectively. The time until excessive GWG was estimated by linear interpolation, assuming a linearly increasing weight gain between different measurements.

To calculate the pre-pregnancy BMI, height was measured during the first prenatal visit, and weight was measured at each prenatal visit by nursing technicians and registered in the medical record. Pre-pregnancy weight was the self-reported weight of a woman near conception [28]. The pre-pregnancy BMI was calculated as [pre-pregnancy weight / height²] and was classified as underweight (BMI < 18.5 kg/m²), normal weight (BMI 18.5 - 24.9 kg/m²), overweight (BMI 25.0 - 29.9 kg/m²), or obesity (BMI ≥30.0 kg/m²) [29].

The last pregnancy weight was measured on admission for childbirth. GWG was calculated as [weight at admission for childbirth – pre-pregnancy weight], representing the total weight gain during pregnancy.

2.5 Genotyping

We collected saliva samples from each pregnant woman participating in the study, and genomic DNA was isolated from buccal epithelial cells using the Aidar and Line (2007) protocol [30]. FTO (rs9939609 and rs17817449) and ADRB2 (rs1042713 and rs1042714) polymorphisms were genotyped by real-time PCR using TaqMan® assays (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA). Reactions were performed in 10 µl volumes containing DNA (2 µl), Universal Master Mix (5 µl), TaqMan Genotyping Assay specific for each polymorphism (0.25 µl), and MiliQ (2.75 µl). Amplification was carried out in a StepOne®

Plus Real-Time PCR System (ThermoFisher) according to the manufacturer's recommendations for the number of cycles and temperatures. Negative and positive controls were included in the plate.

2.6 Co-variates

Data, such as age (years), DM type (1 or 2), education level (elementary, middle, or high school), marital status (married/single), employment (yes/no), per capita income (total family income divided by the number of persons living in the same house, in US\$), housing conditions (adequate when all had regular garbage collection, tap water, and sewerage system), pre-existing chronic diseases (hypothyroidism or chronic hypertension), and parity (number of previous childbirths) were obtained from medical records, and were complemented in a personal interview with the researchers using structured questionnaires. Physical activity was assessed at baseline using the short form of the International Physical Activity Questionnaire (active, irregularly active, and sedentary) [31].

Skin color (white/black/brown/yellow) and years living with DM were self-reported. Energy intake (kcal) at baseline was obtained using a 24-hour dietary recall from which the reported portions of food were converted into grams to quantify the energy content using food composition tables [32,33]. Gestational age (weeks) was calculated using the first ultrasonography performed in prenatal care, which was obtained at the time of inclusion in the study (all < 28 weeks of pregnancy).

2.7 Statistical Analyses

Data are presented as medians and interquartile ranges (IQR) for numeric variables, and absolute (n) and relative frequencies (%) for categorical variables. The normality of the continuous variables was assessed using histograms, kurtosis, and asymmetry measures. Mann–Whitney U and Kruskal–Wallis tests were used to compare continuous numerical variables, and chi-squared or Fisher's exact tests were used for categorical variables. Genotype and allele frequencies of each variant were determined by direct counting, and deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) were evaluated using chi-squared tests.

Paired linkage disequilibrium (LD) patterns were determined for each gene using r^2 statistics (r^2 cutoff ≥ 0.8). Haplotype frequencies or allelic phase determination were estimated by expectation maximization (EM algorithm), and estimation uncertainty was included in the statistical models applied for association analyses in the form of weights. The homozygous/heterozygous genotypes and lower frequency alleles (minor allele frequency,

MAF) in our population, or those containing them, were compared with the higher frequency alleles or genotypes containing higher frequency alleles (reference). Haplotype analyses used the most common haplotype in our population as a reference.

The incidences of excessive GWG were analyzed based on the events and years of persons at risk based on the follow-up time from the most likely date of conception to the most probable date of the outcome. Incidences and 95% confidence intervals (95% CIs) were estimated according to asymptotic standard errors calculated from a gamma distribution. Pregnant women who did not present with the outcome were considered from the most likely date of conception, and censored on the day of delivery.

The results of the time-to-event analyses were presented in the form of hazard ratios (HRs) with 95% CIs, and the risks of progression to the events described above were estimated using Cox proportional hazard models. The assumption of risk proportionality was tested using correlation analyses and χ^2 tests based on Schoenfeld scaled residuals and transformed survival times. The effects of the genetic characteristics of interest were corrected for phenotypic characteristics with at least one suggested association (p -value ≤ 0.1) with the outcome of interest, and the marginal effects presented in the form of aHR. Pre-gestational BMI was not included in the adjusted model because of its potential mediating effect between genotype and outcome. Each polymorphism was evaluated using the additive, dominant, and recessive models.

Statistical analyses were performed using R software (version 4.1.1) and its "genetics" and "survival" packages. Power analysis and sample size estimates were performed using the R code available on the Power and Sample Size platform (<http://powerandsamplesize.com/Calculators/Test-Time-To-Event-Data/Cox-PH-2-Sided-Equality>). Considering the overall prevalence of the event of 0.5% (50%), the frequency of minor allele carriers of 0.35, a mean hazard ratio of 2, and alpha = 0.05, the minimum sample size for Cox proportional models estimated for power (1 - beta) of 0.8 was 144. Nonetheless, we had a limited sample size (n=70) that reached 56.35% statistical power for this analysis.

3. Results

Of the 249 pregnant women with pregestational DM assessed for eligibility, 87 were included in the DASDIA clinical trial, and 70 were included in the present study because there were sufficient data for the analyses: 41 in the traditional diet group and 29 in the DASH diet group (**Figure 1**).

The median age was 32 years (IQR 25.7-36.0) and the gestational age at randomization was 15 weeks (IQR 11.1-20.1). DM type 1 was 51.4% (n= 36) of the cases. The distribution of the variables was homogeneous among the diet groups (**Table 1**).

The genotypic frequencies of rs9939609 - FTO were TT 40%, AT 48.6%, and AA 11.4%, while for rs17817449 - FTO, the values were TT 45.7%, GT 44.3%, and GG 10%, without differences among diet groups (p = 0.48 and p = 0.73, respectively; **Table 2**). The MAFs for rs9939609 (A) were 35.7%, while it was 32.1% for rs17817449 (G).

The genotypic frequencies of rs1042713 - ADRB2 were GG 35.7%, AG 52.9%, and AA 11.4%, while for rs1042714 - ADRB2 the values were CC 50%, CG 44.3%, and GG 5.7%, without differences among diet groups (p = 0.35 and p = 0.28, respectively; **Table 2**). The MAFs for rs1042713 (A) were 37.9% and 27.9%, rs1042714 (G). The genotypes of all evaluated polymorphisms were in HWE (p > 0.05).

The median time of intervention was 22.50 weeks (IQR 15.50 – 26.04). Most pregnant women attended six scheduled appointments (n=38, 54.3%), or at least five of them (n= 16, 22.9%). Almost 40% of the participants had the highest adherence scores in both groups (39.5% in the traditional diet group and 40.7% in the DASH diet group).

In the overall sample (n=70), 28.6% of the women had a normal pre-pregnancy BMI, 35.7% were overweight, and 35.7% were obese. None of the pregnant women were underweight pre-pregnancy. The median GWG was 13.7 kg (IQR 11.5 – 17.5), 11.8 kg (IQR 7.5 – 16.4), and 11.0 (IQR 5.9 – 14.1) for normal-weight, overweight, and obese women, respectively, without differences between diet groups (**Supplementary Table 1**). We found no statistically significant interaction between diet and genotype on GWG, but a marginal effect for the AA genotype of rs9939609 (FTO) and GG genotype of rs17817449 (FTO) (p= 0.05 and p= 0.08, respectively) on higher GWG comparing to another genotypes, only in the traditional diet group (**Supplementary Figure 1**).

Thirty-seven pregnant women (52.9%) presented with excessive GWG, and the median gestational age of exceeding GWG was 31.6 weeks (IQR 26.6 – 35.0). Compared to the traditional diet, the DASH diet did not modify the risk of progression to excessive GWG (aHR 1.32, CI 95% 0.62-2.79; p= 0.46). Instead, the time of living with DM \geq 8 years (aHR 1.99, CI 95% 1.01-3.93; p= 0.04), pre-pregnancy overweight (aHR 3.15, CI 95% 1.23-8.09; p= 0.02) or obesity (aHR 2.87, CI 95% 1.11-7.42; p= 0.03) status, previous hypothyroidism (aHR 4.37, CI 95% 1.62-11.77; p= 0.00), and yellow color of the skin (aHR 74.40; CI 95% 4.25-1302.72; p = 0.00, not shown in the table) were risk factors for earlier GWG. In contrast, age \geq 32 years was a protective factor (aHR 0.41, CI 95% 0.21-0.80; p= 0.01) (**Table 3**).

Adjusting for the main confounders, the A allele carriers (AT/AA) had a higher risk of earlier exceeding GWG (aHR 2.55; CI 95% 1.14-5.69; p= 0.02) than the rs9939609 TT genotype in the FTO gene, which was also found in the comparison of AT vs. TT genotypes (aHR 2.44; CI 95% 1.03-5.78; p= 0.04) (**Table 4**). The A allele carriers for rs1042713 in the ADRB2 gene had a higher risk of earlier exceeding GWG than the GG genotype (aHR 2.37; CI 95% 1.01-5.52; p= 0.04), being almost four times higher for the AA carriers (aHR 3.91; CI 95% 1.12-13.70; p= 0.03). We found that the genotypes for rs17817449 (FTO) and rs1042714 (ADRB2) had no effect on the risk of excess GWG (**Table 5**).

Although rs17817449 alone was not associated with the outcome, in the haplotype analysis of rs9939609:rs17817449 (TT/AG/AT), we found a higher risk for earlier excess GWG among AG carriers: the A allele for rs9939609, and the G allele for rs17817449 (aHR 1.79; CI 95% 1.04-3.06; p= 0.02). We found no association between haplotype analysis of the ADRB2 gene (**Table 6**).

4. Discussion

In a sample of 70 Brazilian pregnant women with pregestational DM, we found that the A allele carriers for rs9939609 (FTO gene) and rs1042713 (ADRB2 gene) had more than twice the risk of earlier exceeding GWG compared to TT and GG genotypes, respectively. The haplotype rs9939609:rs17817449 (AG) was also a risk factor, increasing 1.8 times in terms of the progression to excessive GWG. The DASH diet had no effect on the time-to-excessive GWG. Time of living with DM of ≥ 8 years, pre-pregnancy overweight or obesity, and previous hypothyroidism were risk factors for earlier GWG. However, age ≥ 32 years old was a protective factor.

The allele frequencies in our sample were close to the frequencies in global databases (www.ncbi.nlm.nih.gov/snp). Common polymorphisms (>5% allele frequency) are expected to be shared across different geographical regions and populations [34]. However, the Brazilian population is highly admixed and underrepresented in genomic studies as a potential source of new phenotype-associated genetic variants [35].

The A allele for the rs9939609 polymorphism in the FTO gene was previously associated with higher BMI before and after pregnancy [36,37], but not with excessive GWG [14] in Brazilian women. Studies from the USA [11,12] and Spain [13] found a higher risk of having higher GWG among A-allele carriers, contradicting the results from Turkey [38] and Mexico [39], both without association. The other evaluated polymorphisms (FTO rs17817449, ADRB2 rs1042713, and rs1042714) have not been previously investigated for

GWG. The haplotype rs9939609:rs17817449 (AT) was found to increase the risk of obesity in the Brazilian adult population [10], but we identified the role of AG in the risk of progression to GWG.

There was no statistical difference in GWG with respect to diet type. The effect of the DASH diet on weight gain during pregnancy is controversial. Van Horn et al. (2018) noted that overweight and obese pregnant women ($n= 280$, EUA) gained less weight and had less excessive GWG using the DASH diet than by using a control diet [40], whereas Fulay et al. (2018) reported that high adherence to the DASH diet was associated with more weight gain during pregnancy in obese women ($n= 1760$, EUA) [41].

Genetics may partially explain the interindividual variation in body weight in response to nutritional intervention [42], thus it was hypothesized that the FTO and ADRB2 polymorphisms could modify the effect of diet on GWG. The effect of diet on GWG was not associated with the genotypes in our sample, but we found a marginal association of the FTO polymorphisms on the GWG according to the type of diet: women with the AA genotype for rs9939609 and women with the GG genotype for rs17817449 had higher GWG in the traditional diet group. This result may represent some benefit of the DASH diet on limiting GWG for women with these genotypes, which deserves future investigation using a large sample, as we found no effect of diet on the risk for progression to excessive GWG.

Pregestational overweight and obesity were risk factors for progression to excessive GWG in our sample. This result agrees with the study by Brandão et al. (2021), which involved a large cohort of healthy Brazilian women, and found that excessive GWG was observed in 30.1%, 30.7%, 56.4%, and 46.2% of underweight, normal weight, overweight, and obese women, respectively [2]. According to the IOM guidelines, GWG recommendations decrease when BMI increases. Thus, obese women should gain less weight than overweight and normal weight women, but the guidelines do not provide specific recommendations for women with pregestational DM [6].

In this context, Siegel et al. (2015) found no difference between BMI classes to gain less, within, or above the IOM recommendations in a sample of women with pregestational DM, but noticed a higher risk for macrosomia (aOR 4.02; CI 95% 1.16–13.9) and large-for-gestational-age infants (aOR 3.08; CI 95% 1.13–8.39) in women who gained excessive weight compared to women who gained weight within the recommended amounts, even after adjusting for pregestational BMI [43]. The results from the study by Egan et al. (2014) were similar, reporting that excessive GWG in women with pregestational DM was a risk factor for macrosomia (aOR 3.58; CI 95% 1.77–7.24) and large-for-gestational-age infants (aOR 3.97;

CI 95% 1.85–8.53), but they found more women with overweight or obesity presenting with excessive GWG than non-excessive GWG (44% vs. 27% for overweight and 37% vs. 25% for obesity; $p < 0.01$) [3].

We found that the number of years living with DM was a risk factor for progression to excessive GWG, but older age (≥ 32 years) was a protective factor, which appears controversial. The studies by Egan (2014) and Siegel (2015) did not find any association between age and excessive GWG [3,43], but in a cohort of 8184 healthy Brazilian women, the GWG decreased as the age increased [2].

A longer time of living with DM is expected in women with type 1 DM, who usually have lower pregestational BMI compared to those with type 2 DM [44]. However, given our results for the effect of pregestational BMI on excessive GWG, it seems contradictory. However, the type of DM was not a risk factor for earlier excessive GWG in our sample. Therefore, we suggest that longer years of living with DM may impact the metabolic and behavioral factors influencing GWG not covered in the present study.

Only one participant had yellow skin. This woman was overweight before pregnancy and had the highest GWG in our sample (28.2 kg). Therefore, even though we had found the yellow color of the skin to be a risk factor for progression to excessive GWG, we considered that it cannot be properly interpreted or discussed, as it was an isolated case with a very wide confidence interval. Three women who had excessive GWG in our sample reported the color of the skin as unknown.

A meta-analysis comparing the prevalence of excessive GWG among racial/ethnic groups found that White women were more likely to exceed the IOM guidelines than their Asian and Hispanic counterparts, but White and Black women had a similar prevalence of excessive GWG [45]. Differences in the GWG regarding the color of the skin are often related to socioeconomic discrepancies [45]. We found a marginal effect of inadequate housing conditions on the risk of earlier excessive GWG, but it was not statistically significant.

Of the nine women with hypothyroidism included in our sample, eight had excessive GWG, with a risk more than four times higher than that of women without hypothyroidism (aHR 4.37, CI 95% 1.62–11.77; $p = 0.00$). Collares et al. (2017) found that higher maternal TSH and lower free T4 levels in early pregnancy were associated with a higher GWG [46]. Hypothyroidism is a common endocrine disorder that occurs during pregnancy [47]. In our sample, all women diagnosed with hypothyroidism were treated with oral repositioning of the T4 hormone, and had adequate hormone levels at the time of inclusion in the study; however,

monitoring adherence to treatment and hormone levels during pregnancy was outside the scope of this study.

Identifying risk factors for earlier exceeding GWG and implementing a dietary intervention to mitigate it may help decrease the related adverse outcomes. The sooner the excess weight is present, the more that the metabolic effects can harm the mother and fetus [48]. Of particular interest for pregnant women with DM is that an increase in maternal fat mass during early pregnancy can increase insulin resistance and thus worsen glycemic control [49]. As excess GWG does influence offspring obesity over the short- and long-term [50], faster 1st and 2nd trimester GWG, but not in the 3rd trimester, was associated with higher mid-childhood adiposity in a cohort of 979 mother-child pairs, from whom children were evaluated between 6.6 and 10.9 years of age [51].

Our study is novel in terms of several relevant characteristics. First, we investigated candidate genetic risk factors for progression to excessive GWG, and we did not find previous studies with this objective. Second, we investigated the influence of obesity-related polymorphisms in Brazilian women with pregestational diabetes, since studies enrolling Brazilian pregnant women in this field are scarce and were not designed for women with DM. Additionally, women were administered two distinct types of diets, and we noticed that it had no effect on the risk of progression to excessive GWG in our sample.

However, this study had some limitations. First, we had a limited sample size to include in these analyses, because the clinical trial was originally designed to analyze the effect of the two types of diets on perinatal outcomes without making use of the nutrigenetics approach. Given the increasing evidence regarding the effects of genetic characteristics and gene-diet interactions on BMI and obesity predisposition, we considered that it should gain more attention in the field of maternal and child nutrition. Therefore, we believe that this study will contribute to paving this way.

Furthermore, we had to make adaptations to maintain the study when the COVID-19 pandemic began in 2020. We used telemedicine to complete the follow-up of 6 women (8.6% of the sample) who were already enrolled in the study at the beginning of the pandemic quarantine. The same study protocol was used for the present visits. Prenatal visits to the physicians were maintained at the local level of the study, maintaining the measurements of weight at each visit. We also asked the participants to send a photograph of the prenatal card containing this information using a popular free smartphone application. Once the pandemic quarantine began, we did not include more participants in the study.

5. Conclusions

In this study, we investigated obesity-related polymorphisms in FTO and ADRB2 genes as candidate genetic risk factors for excessive GWG in pregnant women with pregestational DM using traditional or DASH diets. We found no difference in GWG between diet groups and no significant interaction of diet with genotypes on GWG. Compared with the traditional diet, the DASH diet did not modify the risk of progression to excessive GWG.

The AT carriers of rs9939609 (FTO gene) had more than twice the risk of earlier exceeding GWG compared to the TT genotype, and the AA carriers of rs1042713 (ADRB2 gene) had a higher genetic risk factor, which was almost four times higher than the GG carriers. The frequencies of these genotypes in our study population were 48.6% and 11.4%, respectively.

We found no effect of the genotypes of rs17817449 (FTO gene) and rs1042714 (ADRB2 gene) on the risk of progression to excessive GWG; however, the AG carriers for haplotype rs9939609:rs17817449 had almost twice the risk. Non-genetic characteristics associated with the risk of progression to GWG were time living with DM \geq 8 years, pre-pregnancy overweight or obesity, and previous hypothyroidism. In contrast, age \geq 32 years old was a protective factor.

Identifying women at a higher risk for exceeding GWG earlier may help improve nutritional interventions to mitigate this risk. The next step in advancing personalized nutrition is to understand which diet patterns may protect these women against excessive GWG, and to investigate other genes and potential gene-diet-environment interactions with effects on GWG.

References

- 1 Goldstein RF, Abell SK, Ranasinha S, et al. Association of gestational weight gain with maternal and infant outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Am Med Assoc* 2017;317:2207e25.
- 2 Brandão T, de Carvalho Padilha P, de Barros DC, et al. Gestational weight gain adequacy for favourable obstetric and neonatal outcomes: A nationwide hospital-based cohort gestational weight gain for favourable obstetric and neonatal outcomes. *Clin Nutr ESPEN*. 2021 Oct;45:374-380. doi: 10.1016/j.clnesp.2021.02.024.

- 3 Egan AM, Dennedy MC, Al-Ramli W, et al. ATLANTIC-DIP: excessive gestational weight gain and pregnancy outcomes in women with gestational or pregestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Jan;99(1):212-9. doi: 10.1210/jc.2013-2684.
- 4 Gualdani E, Di Cianni G, Seghieri M, et al. Pregnancy outcomes and maternal characteristics in women with pregestational and gestational diabetes: a retrospective study on 206,917 singleton live births. *Acta Diabetol.* 2021 Sep;58(9):1169-1176. doi: 10.1007/s00592-021-01710-0.
- 5 McDowell M, Cain MA, Brumley J. Excessive Gestational Weight Gain. *J Midwifery Womens Health.* 2019 Jan;64(1):46-54. doi: 10.1111/jmwh.12927.
- 6 Institute of Medicine. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington: The National Academies Press; 2009.
- 7 Institute of Medicine. Implementing guidelines on weight gain and pregnancy. Washington: The National Academies Press; 2013.
- 8 Warrington NM, Richmond R, Fenstra B, et al. Maternal and fetal genetic contribution to gestational weight gain. *Int J Obes (Lond).* 2018 Apr;42(4):775-784. doi: 10.1038/ijo.2017.248.
- 9 Loos RJ, Yeo GS. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(1):51-61. doi:10.1038/nrendo.2013.227.
- 10 Fonseca ACPD, Marchesini B, Zembrzuski VM, et al. Genetic variants in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene confer risk for extreme obesity and modulate adiposity in a Brazilian population. *Genet Mol Biol.* 2020;43(1):e20180264. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2018-0264.
- 11 Groth SW, LaLonde A, Wu T, et al. Obesity candidate genes, gestational weight gain, and body weight changes in pregnant women. *Nutrition.* 2018 Apr;48:61-66. doi: 10.1016/j.nut.2017.11.008.
- 12 Groth SW, Morrison-Beedy D. GNB3 and FTO Polymorphisms and Pregnancy Weight Gain in Black Women. *Biol Res Nurs.* 2015 Jul;17(4):405-12. doi: 10.1177/1099800414561118.

- 13 Gesteiro E, Sánchez-Muniz FJ, Ortega-Azorín C, et al. Maternal and neonatal FTO rs9939609 polymorphism affect insulin sensitivity markers and lipoprotein profile at birth in appropriate-for-gestational-age term neonates. *J Physiol Biochem.* 2016 Jun;72(2):169-81. doi: 10.1007/s13105-016-0467-7.
- 14 Martins MC, Trujillo J, Farias DR, et al. Association of the FTO (rs9939609) and MC4R (rs17782313) gene polymorphisms with maternal body weight during pregnancy. *Nutrition.* 2016 Nov-Dec;32(11-12):1223-30. doi: 10.1016/j.nut.2016.04.009.
- 15 Al-Ogaidi SO, Abdulsattar S, al-dulaimi M. FTO rs17817449 Gene Polymorphism as a Predictor for Maternal Obesity in Iraqi Pregnant Women. *Indian Journal of Public Health Research and Development* 10(4):678-683. doi: 10.5958/0976-5506.2019.00780.0.
- 16 Steemburgo T, Azevedo MJ, Martínez JA. Interação entre gene e nutriente e sua associação à obesidade e ao diabetes melito [Gene-nutrient interaction and its association with obesity and diabetes mellitus]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009 Jul;53(5):497-508. Portuguese. doi: 10.1590/s0004-27302009000500003.
- 17 Zhang H, Wu J, Yu L. Association of Gln27Glu and Arg16Gly polymorphisms in Beta2-adrenergic receptor gene with obesity susceptibility: a meta-analysis. *PLoS One.* 2014 Jun 24;9(6):e100489. doi: 10.1371/journal.pone.0100489.
- 18 American Diabetes Association. 14. Management of Diabetes in Pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care* 2021 Jan; 44(Supplement 1): S200-S210. doi: 10.2337/dc21-S014.
- 19 Svetkey LP, Sacks FM, Obarzanek E, et al. The DASH Diet, Sodium Intake and Blood Pressure Trial (DASH-sodium): rationale and design. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *J Am Diet Assoc.* 1999;99(8 Suppl):S96–104.
- 20 Asemi Z, Tabassi Z, Samimi M, et al. Favourable effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension diet on glucose tolerance and lipid profiles in gestational diabetes: a randomised clinical trial. *Br J Nutr.* 2013 Jun;109(11):2024-30. doi: 10.1017/S0007114512004242.
- 21 Li S, Gan Y, Chen M, et al. Effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) on Pregnancy/Neonatal Outcomes and Maternal Glycemic Control: A Systematic

Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials. Complement Ther Med. 2020 Nov;54:102551. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102551.

22 Hosseini-Esfahani F, Koochakpoor G, Daneshpour MS, et al. Mediterranean Dietary Pattern Adherence Modify the Association between FTO Genetic Variations and Obesity Phenotypes. Nutrients. 2017 Sep 26;9(10):1064. doi: 10.3390/nu9101064.

23 Hosseini-Esfahani F, Koochakpoor G, Mirmiran P, et al. Dietary patterns modify the association between fat mass and obesity-associated genetic variants and changes in obesity phenotypes. Br J Nutr. 2019 Jun;121(11):1247-1254. doi: 10.1017/S0007114519000643.

24 Martínez JA, Corbalán MS, Sánchez-Villegas A, et al. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. J Nutr. 2003 Aug;133(8):2549-54. doi: 10.1093/jn/133.8.2549.

25 Ferguson LR, De Caterina R, Görman U, et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalised Nutrition: Part 1 - Fields of Precision Nutrition. J Nutrigenet Nutrigenomics. 2016;9(1):12-27. doi: 10.1159/000445350.

26 Saunders C, Moreira TM, Belfort GP, et al. Procedimentos metodológicos para elaboração de plano alimentar adaptado baseado na dieta DASH para gestantes com diabetes mellitus. BJD. 2021;7(12): 116769-116788. doi: 10.34117/bjdv7n12-436.

27 Della Líbera B, Ribeiro Baião M, de Souza Santos MM, et al. Adherence of pregnant women to dietary counseling and adequacy of total gestational weight gain. Nutr Hosp. 2011 Jan-Feb;26(1):79-85.

28 Carrilho TRB, Rasmussen K, Farias DR, et al. Agreement between self-reported pre-pregnancy weight and measured first-trimester weight in Brazilian women. BMC Pregnancy Childbirth. 2020 Nov 26;20(1):734. doi: 10.1186/s12884-020-03354-4.

29 World Health Organization (WHO). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. v. 452, p. 1–542, 1995.

30 Aidar M, Line SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. Braz Dent J, v. 18, n. 2, p. 148-152, 2007.

- 31 Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reproducibilidade no Brasil. RBAFS 2001; 6(2): 5–18.
- 32 Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO/NEPA-Unicamp). <http://www.nepa.unicamp.br/taco/tabela.php?ativo=tabela>.
- 33 United States Department of Agriculture. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. <https://fdc.nal.usda.gov/>.
- 34 Biddanda A, Rice DP, Novembre J. A variant-centric perspective on geographic patterns of human allele frequency variation. *Elife*. 2020 Dec 22;9:e60107. doi: 10.7554/eLife.60107.
- 35 Sciar MO, Sant'Anna HP, Santolalla ML, et al. Admixture/fine-mapping in Brazilians reveals a West African associated potential regulatory variant (rs114066381) with a strong female-specific effect on body mass and fat mass indexes. *Int J Obes (Lond)*. 2021 May;45(5):1017-1029. doi: 10.1038/s41366-021-00761-1.
- 36 Kroll C, Farias DR, Carrilho TRB, et al. Association of ADIPOQ-rs2241766 and FTO-rs9939609 genetic variants with body mass index trajectory in women of reproductive age over 6 years of follow-up: the PREDI study. *Eur J Clin Nutr*. 2021 Apr 13. doi: 10.1038/s41430-021-00911-8.
- 37 Kroll C, de França PHC, Mastroeni MF. Association between FTO gene polymorphism and excess body weight in women from before to after pregnancy: A cohort study. *Am J Hum Biol*. 2018 Sep;30(5):e23164. doi: 10.1002/ajhb.23164.
- 38 Beysel S, Eyerici N, Ulubay M, et al. Maternal genetic contribution to pre-pregnancy obesity, gestational weight gain, and gestational diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr*. 2019;11:37. doi:10.1186/s13098-019-0434-x.
- 39 Saucedo R, Valencia J, Gutierrez C, et al. Gene variants in the FTO gene are associated with adiponectin and TNF-alpha levels in gestational diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr*. 2017 May 12;9:32. doi: 10.1186/s13098-017-0234-0.
- 40 Van Horn L, Peaceman A, Kwasny M, et al. Dietary Approaches to Stop Hypertension Diet and Activity to Limit Gestational Weight: Maternal Offspring Metabolics Family

Intervention Trial, a Technology Enhanced Randomized Trial. *Am J Prev Med.* 2018 Nov;55(5):603-614. doi: 10.1016/j.amepre.2018.06.015.

41 Fulay AP, Rifas-Shiman SL, Oken E, et al. Associations of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet with pregnancy complications in Project Viva. *Eur J Clin Nutr.* 2018 Oct;72(10):1385-1395. doi: 10.1038/s41430-017-0068-8.

42 Camp KM, Trujillo E. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: nutritional genomics. *J Acad Nutr Diet.* 2014 Feb;114(2):299-312. doi: 10.1016/j.jand.2013.12.001.

43 Siegel AM, Tita A, Biggio JR, Harper LM. Evaluating gestational weight gain recommendations in pregestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Oct;213(4):563.e1-5. doi: 10.1016/j.ajog.2015.07.030.

44 Alessi J, Wiegand DM, Hirakata VN, et al. Temporal changes in characteristics and outcomes among pregnant women with pre-gestational diabetes. *Int J Gynaecol Obstet.* 2018 Oct;143(1):59-65. doi: 10.1002/ijgo.12590.

45 Denize KM, Acharya N, Prince SA, et al. Addressing cultural, racial and ethnic discrepancies in guideline discordant gestational weight gain: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ.* 2018 Aug 27;6:e5407. doi: 10.7717/peerj.5407.

46 Collares FM, Korevaar TIM, Hofman A, et al. Maternal thyroid function, prepregnancy obesity and gestational weight gain-The Generation R Study: A prospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017 Dec;87(6):799-806. doi: 10.1111/cen.13412.

47 Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid.* 2017 Mar;27(3):315-389. doi: 10.1089/thy.2016.0457.

48 Cheney K, Berkemeier S, Sim KA, et al. Prevalence and predictors of early gestational weight gain associated with obesity risk in a diverse Australian antenatal population: a cross-sectional study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017;17(1):296. doi:10.1186/s12884-017-1482-6.

49 Herring SJ, Oken E, Rifas-Shiman SL, et al. Weight gain in pregnancy and risk of maternal hyperglycemia. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(61):e1-e7.

50 Mamun AA, Mannan M, Doi SA. Gestational weight gain in relation to offspring obesity over the life course: a systematic review and bias-adjusted meta-analysis. *Obes Rev.* 2014 Apr;15(4):338-47. doi: 10.1111/obr.12132.

51 Hivert MF, Rifas-Shiman SL, Gillman MW, et al. Greater early and mid-pregnancy gestational weight gains are associated with excess adiposity in mid-childhood. *Obesity (Silver Spring)*. 2016;24(7):1546-1553. doi:10.1002/oby.21511.

Chart 1 – Daily composition of the diets used in the study.

	Traditional Diet	DASH Diet
Saturated fatty acids*	9.7% E	7.2% E
Monounsaturated fatty acids*	8.5% E	9.2% E
Polyunsaturated fatty acids*	2.8% E	5.6% E
Fiber	42g	55g
Calcium	1500 mg	2280 mg
Magnesium	315 mg	496 mg
Potassium	4081 mg	4418 mg
Sodium	2400 mg	2400 mg

* Expressed as percentual of daily energy intake (% E).

Data are presented for a daily energy intake of 2100 kcal, as an example.

Table 1 – Characteristics of the participants at baseline (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

	Overall n= 70	Trad. Diet n= 41	DASH Diet n=29	p- value*
Age (years)	32 (25.7 – 36.0)	31 (25.0 – 35.0)	34 (28.0 – 37.0)	0.28
Gestational age (weeks)	15.0 (11.1 – 20.1)	14.4 (11.6 – 21.6)	16.0 (10.1 – 18.6)	0.66
DM type n (%)				
DM1	36 (51.4)	21 (51.2)	15 (51.7)	0.97
DM2	34 (48.6)	20 (48.8)	14 (48.3)	
Years living with DM	8 (2.0 – 13.5)	6 (1.9 – 12.5)	9 (2.0 – 14.5)	0.36
Skin color n (%)				
Brown	27 (38.6)	15 (36.6)	12 (41.4)	
White	22 (31.4)	12 (29.3)	10 (34.5)	
Black	16 (22.9)	11 (26.8)	5 (17.2)	0.59
Yellow	1 (1.4)	0 (0)	1 (3.4)	
Unknown	4 (5.7)	3 (7.3)	1 (3.4)	
Marital status n (%)				
Married	56 (80.0)	33 (80.5)	23 (79.3)	
Single	12 (17.1)	6 (14.6)	6 (20.7)	0.57
<i>Missing</i>	2 (2.9)	2 (4.9)	0 (0)	
Education level n (%)				
Elementary/middle school	46 (65.7)	26 (63.4)	20 (69.0)	
High school	23 (32.9)	14 (34.2)	9 (31.0)	0.73
<i>Missing</i>	1 (1.4)	1 (2.4)	0 (0)	
Employment n (%)				
Yes	42 (60.0)	26 (63.4)	16 (55.2)	
No	27 (38.6)	14 (34.1)	13 (44.8)	0.41
<i>Missing</i>	1 (1.4)	1 (2.4)	0 (0)	
per capita income (US dollars[†])	151.51 (103.04 – 227.27)	154.54 (113.33 – 228.78)	136.36 (91.67 – 221.04)	0.59
Housing conditions				
Adequate	64 (91.4)	37 (90.2)	27 (93.1)	1.00
Inadequate	3 (4.3)	2 (4.9)	1 (3.5)	
<i>Missing</i>	3 (4.3)	2 (4.9)	1 (3.5)	
Parity n (%)	1 (0 – 1.25)	1 (0 – 1.5)	1 (0 – 1.5)	0.92
Preexisting chronic disease n (%)				
None	48 (68.4)	31 (75.6)	17 (58.6)	
Hypertension	9 (12.9)	4 (9.8)	5 (17.2)	
Hypothyroidism	8 (11.4)	2 (4.9)	6 (20.7)	0.06
Both	1 (1.4)	0 (0)	1 (3.4)	
<i>Missing</i>	4 (5.7)	4 (9.8)	0 (0)	
Pre-pregnancy BMI (kg/m²)	27.85 (24.4 – 32.3)	27.10 (24.3 – 31.9)	28.60 (25.7 -33.3)	0.16
Pre-pregnancy BMI n (%)				
Normal weight	20 (28.6)	14 (34.1)	6 (20.7)	
Overweight	25 (35.7)	14 (34.1)	11 (37.9)	0.45
Obesity	25 (35.7)	13 (31.7)	12 (41.4)	
Energy intake (kcal)	1808.3 (1578.7 – 2228.6)	1823.8 (1528.9 – 2362.2)	1780.7 (1644.5 – 1968.8)	0.68
Physical Activity n (%)				
Active	30 (42.9)	15 (36.6)	15 (51.7)	
Irregularly active	27 (38.6)	17 (41.5)	10 (34.5)	
Sedentary	7 (10.0)	5 (12.1)	2 (6.9)	0.51
<i>Missing</i>	6 (8.6)	4 (9.8)	2 (6.9)	

Data presented as median (interquartile range) or as absolute and relative frequencies n (%).

[†]Estimated for exchange rate of 1 real (R\$) = 5.5 US dollars.

* Mann–Whitney U test or Kruskal–Wallis test to compare medians and Chi square test or Fisher exact test to compare frequencies.

Table 2 – Genetic background of the participants concerning FTO and ADRB2 polymorphisms (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

	Overall n= 70	Traditional Diet n= 41	DASH Diet n=29	p- value*
FTO rs9939609 n (%)				
T Allele	90 (64.3)			
A Allele	50 (35.7)			
TT	28 (40.0)	17 (41.5)	11 (37.9)	
AT	34 (48.6)	21 (51.2)	13 (44.8)	0.48
AA	8 (11.4)	3 (7.3)	5 (17.2)	
FTO rs17817449 n (%)				
T Allele	95 (67.9)			
G Allele	45 (32.1)			
TT	32 (45.7)	19 (46.3)	13 (44.8)	
GT	31 (44.3)	19 (46.3)	12 (41.4)	0.73
GG	7 (10.0)	3 (7.3)	4 (13.8)	
ADRB2 rs1042713 n (%)				
G Allele	87 (62.1)			
A Allele	53 (37.9)			
GG	25 (35.7)	12 (29.3)	13 (44.8)	
AG	37 (52.9)	23 (56.1)	14 (48.3)	0.35
AA	8 (11.4)	6 (14.6)	2 (6.9)	
ADRB2 rs1042714 n (%)				
C Allele	101 (72.1)			
G Allele	39 (27.9)			
CC	35 (50.0)	20 (48.3)	15 (51.7)	
CG	31 (44.3)	17 (41.5)	14 (48.3)	0.28
GG	4 (5.7)	4 (9.8)	0 (0)	

FTO: fat mass and obesity-associated gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

Data presented as absolute and relative frequencies n (%).

Genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium.

* Chi square test or Fisher exact test to compare frequencies.

Table 3 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), analyzing diet groups and general characteristics of the participants (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

Characteristics	Outcome	pY	Crude Incidence/ 100 pY (CI95%)	HR (CI95%)	p value	aHR* (CI95%)	p value
Overall	37	44.4	83.29 (58.65-114.81)	-	-	-	-
Diet							
Traditional diet	18	26.0	69.12 (40.97-109.25)	Reference	-	Reference	-
DASH diet	19	18.4	103.36 (62.23-161.41)	1.66 (0.87-3.17)	0.12	1.32 (0.62-2.79)	0.46
Type of DM							
DM1	17	23.2	73.36 (42.73-117.46)	Reference	-	Reference	-
DM2	20	21.2	94.12 (57.49-145.37)	1.39 (0.728-2.657)	0.32	0.92 (0.38-2.22)	0.86
Years living with DM (years)							
< 8	18	25.3	71.25 (42.23-112.61)	Reference	-	Reference	-
≥ 8	19	18.4	103.10 (62.07-161.00)	1.62 (0.85-3.09)	0.14	1.99 (1.01-3.93)	0.04
Age (years)							
< 32	21	23.0	91.20 (56.46-139.41)	Reference	-	Reference	-
≥ 32	16	21.4	74.78 (42.74-121.44)	0.80 (0.41-1.53)	0.49	0.41 (0.21-0.80)	0.01
Color of the skin							
Brown	14	17.2	81.17 (44.37-136.18)	Reference	-	Reference	-
White	10	14.0	71.30 (34.19-131.11)	0.84 (0.37-1.89)	0.67	0.68 (0.29-1.59)	0.37
Black	10	10.2	98.29 (47.13-180.76)	1.40 (0.62-3.17)	0.41	1.13 (0.46-2.80)	0.79
Marital Status							
Married	30	36.9	81.30 (54.86-116.07)	Reference	-	Reference	-
Single	7	6.8	102.84 (41.35-211.90)	1.44 (0.63-3.29)	0.38	1.92 (0.79-4.68)	0.15
Employment							
Yes	20	26.9	74.18 (45.31-114.56)	Reference	-	Reference	-
No	17	16.7	101.54 (59.15-162.58)	1.40 (0.74-2.68)	0.30	1.45 (0.76-2.79)	0.26
Housing Conditions							
Adequate	35	41.1	85.10 (59.27-118.35)	Reference	-	Reference	-
Inadequate	2	1.1	183.54 (22.23-663.01)	4.49 (1.04-19.43)	0.04	4.25 (0.84-21.59)	0.08
Pre-pregnancy BMI							
Normal weight	6	13.5	44.43 (16.31-96.71)	Reference	-	Reference	-
Overweight	16	15.6	102.54 (58.61-166.52)	3.15 (1.23-8.09)	0.02	3.15 (1.23-8.09)	0.02
Obesity	15	15.3	97.94 (54.82-161.53)	2.87 (1.11-7.42)	0.03	2.87 (1.11-7.42)	0.03

Chronic disease							
None	24	31.1	70.74 (44.33-107.10)	Reference	-	Reference	-
Chronic hypertension	5	5.6	89.26 (28.98-208.30)	1.53 (0.58-4.04)	0.39	1.33 (0.48-3.70)	0.59
Hypothyroidism	7	4.9	141.02 (56.70-290.56)	2.66 (1.13-6.30)	0.02	4.37 (1.62-11.77)	0.00
Both	1	0.7	141.02 (3.57-785.72)	1.64 (0.22-12.19)	0.63	1.21 (0.15-9.98)	0.86

pY: person-years, CI: confidence interval, DASH: Dietary Approach to stop Hypertension, DM: diabetes mellitus, BMI: body mass index.

*Adjusted HR for skin color, previous chronic diseases, and housing conditions.

Table 4 – Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), stratified by the FTO polymorphisms rs9939609 and rs17817449 ((Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

Genotypes	Outcome	pY	Crude Incidence/100 pY (IC95%)	HR (CI95%)	p value	aHR* (CI95%)	p value
Overall	37	44.4	83.29 (58.65 – 114.31)	-	-	-	-
rs9939609							
Additive Model	TT	12	18.6 (33.24-112.38)	Reference	-	Reference	-
	AT	19	20.6 (55.43-143.77)	1.56 (0.76-3.21)	0.23	2.44 (1.03-5.78)	0.04
	AA	6	5.1 (42.92-254.53)	2.08 (0.78-5.55)	0.14	2.83 (0.93-8.62)	0.07
Dominant Model	TT	12	18.6 (33.24-112.38)	Reference	-	Reference	-
	AT/AA	25	25.8 (62.78-143.21)	1.66 (0.83-3.30);	0.15	2.55 (1.14-5.69)	0.02
Recessive Model	AA	6	5.1 (42.92-254.53)	Reference	-	Reference	-
	AT/TT	31	39.3 (53.61-111.99)	0.62 (0.26-1.48)	0.28	0.54 (0.20-1.49)	0.24
rs17817449							
Additive Model	TT	15	21.0 (39.97-117.80)	Reference	-	Reference	-
	GT	17	18.8 (52.75-144.98)	1.30 (0.65-2.61)	0.46	1.66 (0.75-3.65)	0.21
	GG	5	4.6 (34.94-251.14)	1.54 (0.56-4.25)	0.40	2.18 (0.65-7.33)	0.21
Dominant Model	TT	15	21.0 (39.97-117.8)	Reference	-	Reference	-
	GT/GG	22	23.4 (58.87-142.22)	1.35 (0.70-2.60)	0.37	1.74 (0.82-3.70)	0.15
Recessive Model	GG	5	4.6 (34.94-251.14)	Reference	-	Reference	-
	GT/TT	32	39.8 (55.03-113.57)	0.74 (0.29-1.90)	0.53	0.60 (0.20-1.83)	0.37

pY: person-years, CI: confidence interval, FTO: fat mass and obesity-associated gene.

*Adjusted HR for skin color, previous chronic diseases, and housing conditions.

Table 5 – Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), stratified by the ADRB2 polymorphisms rs1042713 and rs1042714 (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

Genotypes		Outcome	pY	Crude Incidence/100 pY (IC95%)	HR (CI95%)	p- value	aHR* (CI95%)	p- value
Overall		37	44.4	83.29 (58.65 – 114.31)	-	-	-	-
rs1042713								
Additive Model	GG	10	16.3	61.44 (29.46-112.99)	Reference	-	Reference	-
	AG	22	23.6	93.36 (58.51-141.35)	1.72 (0.81-3.64)	0.16	2.14 (0.89-5.14)	0.09
	AA	5	4.6	109.16 (35.44-254.74)	2.05 (0.70-6.02)	0.19	3.91 (1.12-13.70)	0.03
Dominant Model	GG	10		61.44 (29.46-112.99)	Reference	-	Reference	-
	AG/AA	27		95.93 (63.22-139.57)	1.77 (0.86-3.67)	0.123	2.37 (1.01-5.52)	0.04
Recessive Model	AA	5	4.6	109.16 (35.44-254.74)	Reference	-	Reference	-
	AG/GG	32	39.8	80.32 (54.94-113.38)	0.69 (0.27-1.77)	0.44	0.41 (0.14-1.21)	0.11
rs1042714								
Additive Model	CC	20	21.2	94.11 (57.49-145.35)	Reference	-	Reference	-
	CG	15	20.4	73.41 (41.09-121.08)	0.71 (0.36-1.39)	0.32	0.78 (0.37-1.63)	0.51
	GG	2	2.7	73.05 (8.85-263.88)	0.65 (0.15-2.80)	0.57	0.29 (0.04-1.91)	0.20
Dominant Model	CC	20	21.2	94.11 (57.49-145.35)	Reference	-	Reference	-
	CG/GG	17	23.2	73.37 (42.74-117.47)	0.70 (0.37-1.34)	0.29	0.70 (0.34-1.44)	0.33
Recessive Model	GG	2	2.7	73.05 (8.85-263.88)	Reference	-	Reference	-
	CG/CC	35	41.7	83.96 (58.48-116.77)	1.30 (0.31-5.40)	0.72	3.20 (0.48-21.53)	0.23

pY: person-years, CI: confidence interval, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

*Adjusted HR for skin color, previous chronic diseases, and housing conditions.

Table 6 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to excessive gestational weight gain), analyzing the haplotypes ADRB2 rs1042713:rs1042714 and FTO rs9939609:rs17817449 (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

Haplotypes	Outcome	pY	Crude Incidence/ 100 pY (CI95%)	HR (CI95%)	p value	aHR* (CI95%)	p value
ADRB2 rs1042713:rs1042714							
AC	32	32.7	97.78 (66.88-138.04)	Reference	-	Reference	-
GC	23	30.2	76.13 (48.26-114.24)	0.74 (0.43-1.26)	0.26	0.63 (0.36-1.12)	0.12
GG	19	25.9	73.33 (44.15-114.52)	0.67 (0.38-1.19)	0.17	0.59 (0.32-1.09)	0.09
FTO rs9939609:rs17817449							
TT	43	57.2	75.17 (54.40-101.26)	Reference	-	Reference	-
AG	27	27.3	98.81 (65.12-143.77)	1.37 (0.85-2.22)	0.18	1.79 (1.04-3.06)	0.02
AT	4	3.6	111.87 (30.48-286.42)	2.03 (0.73-5.67)	0.26	1.40 (0.46-4.28)	0.49

pY: person-years, CI: confidence interval, FTO: fat mass and obesity-associated gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

*Adjusted HR for skin color, previous chronic diseases, and housing conditions.

Supplementary table 1 – Comparison of the gestational weight gain (kg) between diet groups, according to the pregestational BMI (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

Overall n= 70	Traditional Diet n= 41	DASH Diet n=29	p- value*
Normal weight BMI 18.5 – 24.9 kg/m ² Recommended GWG: 11.5 to 16 kg			
13.7 (11.5 – 17.5)	13.7 (11.6 – 15.6)	15.5 (10.0 – 19.9)	0.57
Overweight BMI 25.0 a 29.9 kg/m ² Recommended GWG: 7 to 11.5 kg			
11.8 (7.5 – 16.4)	11.0 (7.6 – 16.3)	12.9 (7.0 – 16.8)	0.93
Obesity BMI ≥ 30.0 kg/m ² Recommended GWG: 5 to 9 kg			
11.0 (5.9 – 14.1)	9.0 (5.6 – 13.6)	11.2 (8.9 – 14.4)	0.50

BMI: body mass index, GWG: gestational weight gain.

Data presented as median and interquartile range.

* U Mann-Whitney test.

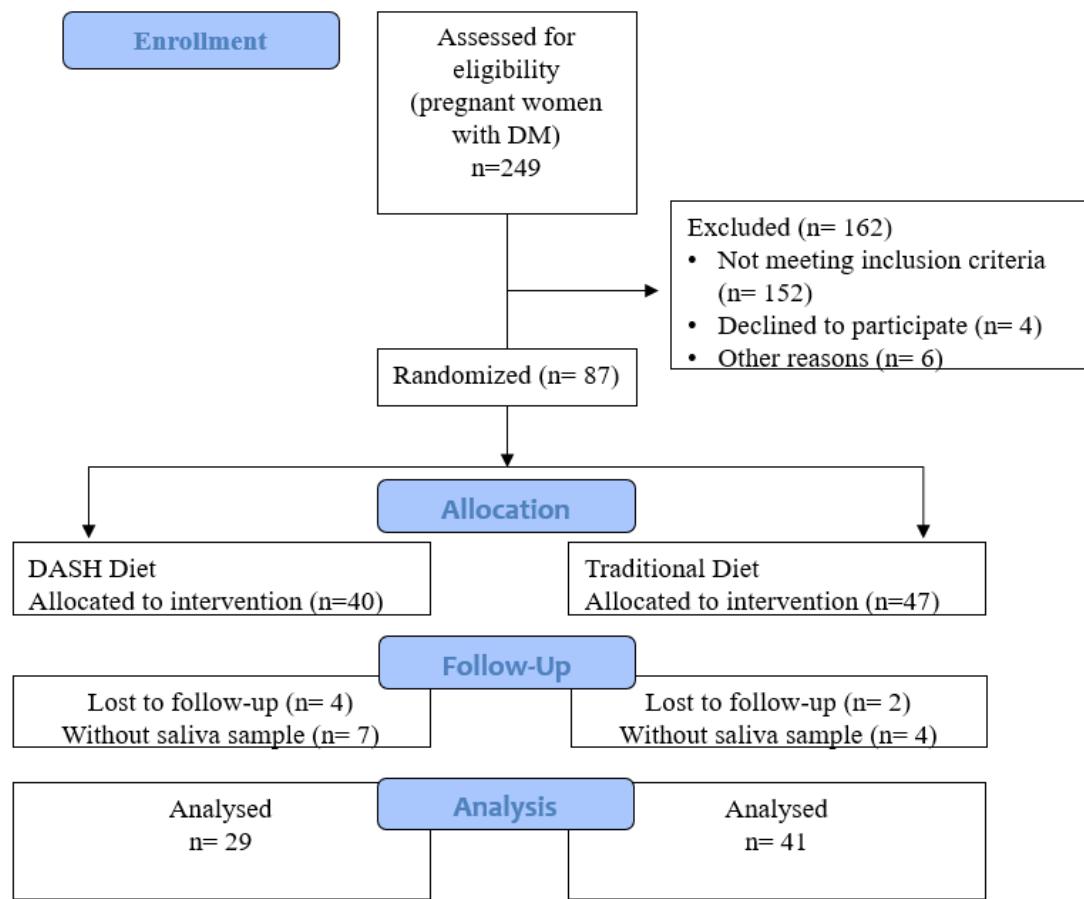
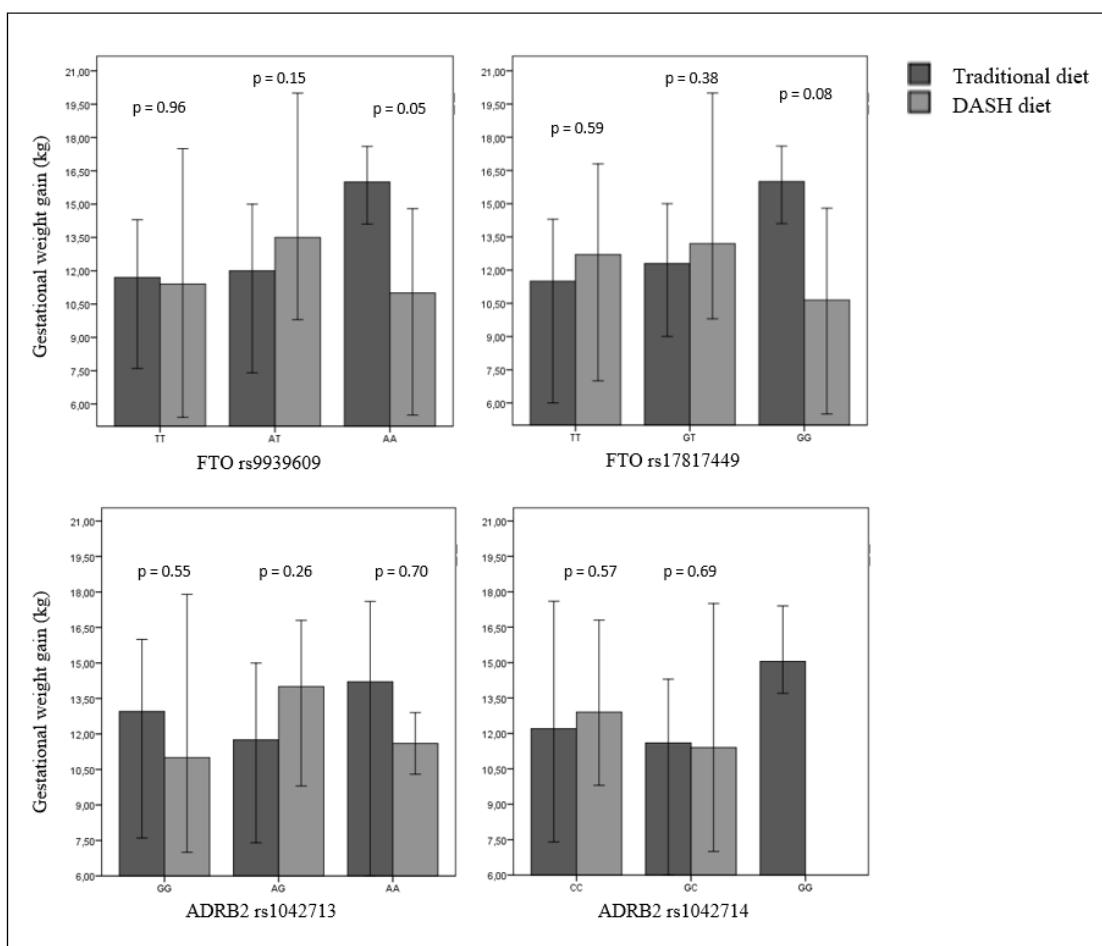
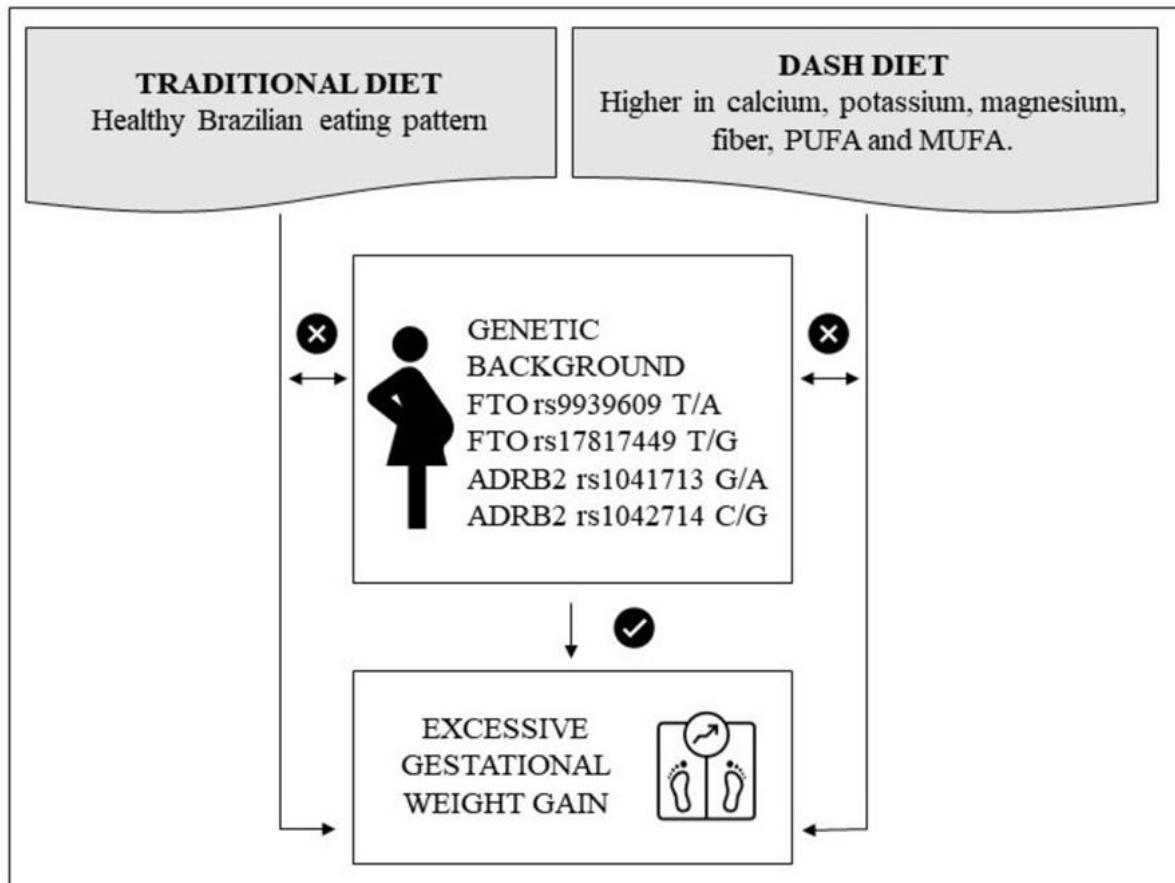


Figure 1 – Flowchart of the study.



Supplementary Figure 1 – Gestational weight gain according to genotypes and dietary patterns.
 FTO: fat mass and obesity gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene, DASH: Dietary Approach to Stop Hypertension. Gestational weight gain (kg) presented as median and error bars 95% CI, p-values resulting from Mann-Whitney U test.



Graphical Abstract – Regardless the type of diet (Traditional or DASH), AT carriers of rs9939609 (FTO) and AA carriers of rs1042713 (ADRB2) had higher risk of earlier exceeding GWG compared to TT and GG genotypes, respectively, as the haplotype rs9939609:rs17817449 (AG). DASH: Dietary Approach to Stop Hypertension, GWG: gestational weight gain, PUFA: polyunsaturated fatty acids, MUFA: monounsaturated fatty acids, FTO: fat mass and obesity gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

Manuscrito 2

Dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of hypertensive disorders of pregnancy in women with pregestational diabetes: a randomized controlled clinical trial

**Dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of hypertensive disorders of pregnancy in women with pregestational diabetes:
a randomized controlled clinical trial**

Abstract

Background: Women with pregestational diabetes are in high risk for hypertensive disorders of pregnancy (HDP), a leading cause of maternal and perinatal mortality and morbidity. HDP have a multifactorial etiology, involving genetic predisposition, lifestyle, and environmental exposures. **Aim:** To investigate dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of HDP in women with pregestational diabetes. **Methods:** A randomized clinical trial carried out in Rio de Janeiro/Brazil (2016-2020). Participants were allocated to one of the two groups of the study: traditional diet ($n = 41$) or DASH diet ($n = 29$). Diets had the same percentage of macronutrients, but differed in calcium, potassium, magnesium, fiber, and fatty acids. Measurements of systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were obtained during the prenatal visits and HDP were diagnosed using the American College of Obstetricians and Gynecologists criteria. Phenotypic data were obtained from medical records and personal interviews. Genotyping was performed for polymorphisms in the FTO and ADRB2 genes by real-time PCR using DNA extracted from a saliva sample. Linear Mixed-effect Models were performed to analyze blood pressure values longitudinally during pregnancy and a time-to-event analysis was performed to identify the risk factors for developing HDP. **Results:** The risk factors for HDP were the black color of the skin (aHR 8.63; CI 95% 1.85-40.18; $p = 0.01$), the history of pre-eclampsia in previous pregnancy (aHR 11.66; CI 95% 2.22-61.07; $p < 0.01$), SBP ≥ 114 mmHg in the third trimester (aHR 5.56; CI 95% 1.09-28.42; $p = 0.04$), DBP ≥ 70 mmHg in the first trimester (aHR 70.15; CI 95% 1.43-3450.19; $p = 0.03$), peak values of mean blood pressure > 100 mmHg (aHR 18.42; CI 95% 1.38-245.98; $p = 0.03$), and HbA1c $\geq 6.41\%$ in the third trimester (aHR 4.76; CI 95% 1.14-19.86; $p = 0.03$). We found no statistical difference in the trajectory of blood pressure during pregnancy between the diet groups, neither among the FTO and ADRB2 genotypes or gene-diet interaction. **Conclusion:** Among dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics assessed, only the phenotypic ones were associated with the development of HDP in our sample. Identifying women in higher risk for HDP using clinical parameters is a valuable strategy to increase prenatal care and reduce maternal and neonatal morbidity and mortality among women with pregestational diabetes.

Keywords: Pregnancy in Diabetes, Pregnancy Induced Hypertension, DASH diet, Nutrigenetics.

Introduction

The hypertensive disorders of pregnancy (HDP) are a leading cause of maternal and perinatal mortality and morbidity worldwide, mostly occurring in under-resourced settings. Monitoring blood pressure is a key strategy to screening for HDP during the prenatal care, aiming to protect maternal and children's health (Magee et al, 2021).

Gestational hypertension is defined as the new onset of systolic ≥ 140 mmHg or diastolic ≥ 90 mmHg blood pressure at or after 20 weeks of pregnancy. When gestational hypertension is accompanied by proteinuria (≥ 300 mg / 24-hour urine collection) or new-onset organic disfunctions (e.g. thrombocytopenia, renal insufficiency, impaired liver function) it characterizes preeclampsia (PE), the most dangerous of the HDP (ACOG, 2020).

Women with pregestational diabetes mellitus (DM) are in high risk for HDP. About 7% of all pregnancies are affected by PE (Rezende et al., 2016), whereas in pregnant women with type 1 DM the incidence is 15 to 20% and 10 to 14% in type 2 DM (Weissgerber; Mudd, 2015). Besides DM, another recognized high-risk factors for HDP are chronic hypertension, multifetal gestation, nulliparity, history of pre-eclampsia, renal disease, and autoimmune disease. About 25% of women who present with gestational hypertension at or before 34 weeks of pregnancy usually progress to PE and have poorer outcomes (Magee et al, 2021; ACOG, 2020). Thus, as moderate-risk factors are obesity, family history of PE, unfavorable sociodemographic characteristics, and age 35 years or older (ACOG, 2020).

Having a healthy diet is supposed to decrease in 33% the risk for PE (Allen et al., 2014). The DASH diet (Dietary Approach to Stop Hypertension) was designed to prevent and treat hypertension, which can be explained by its composition rich in calcium, magnesium, potassium, mono and polyunsaturated fatty acids, dietary fibers, and antioxidants (Svetkey et al., 1999). The adherence of pregnant women with cardiometabolic disorders to DASH diet can reduce the risk of obstetric and perinatal complications, including the incidence of PE (Li et al., 2020), although this effect was not investigated in women with pregestational DM.

As a multifactorial disease, there is also a strong genetic component in hypertension during pregnancy, and several genes have been linked with HDP (Agius et al, 2018). Genes that interact with diet on the outcomes are of particular interest in the nutrigenetics investigation, aiming to provide a personalized nutrition for individuals with higher risk for

disease (Ferguson et al., 2016). The adrenoceptor beta 2 gene (ADRB2) encodes the beta-2-adrenergic receptor, which responds to sympathetic stimulus for vasodilation and nitric oxide release in the endothelium, so affecting the blood pressure control (Eisenach; Wittwer, 2010; Eisenach et al., 2014). The effect of one-month intervention with DASH diet on the decrease of blood pressure was different between American adults with stage 1 hypertension according to the ADRB2 genotypes for two common polymorphisms, rs1042713 (G/A) and rs1042714 (C/G), indicating that the benefits of the diet were influenced by the genetic characteristics (Svetkey et al., 2011).

Polymorphisms in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene are strongly associated with obesity, type 2 DM, and elevated blood pressure (Yang et al., 2017). The FTO polymorphisms rs9939609 (T/A) and rs17817449 (T/G) were associated with obesity in the Brazilian population (Fonseca et al., 2020). The FTO genetic predisposition to hypertension seems to be associated with risk for PE in European and Central Asian women (Steinthorsdottir et al., 2020). However, negative effects of the FTO genotype on the metabolic phenotype can be modified by environmental-gene interaction, and counteracted by a healthy diet (Mehrdad et al., 2021).

The precise role of diet, phenotype, genotype, and its interaction influencing the development of HDP remains unclear. So, the aim of this study was to investigate the dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of HDP in women with pregestational DM using two different types of diet: traditional and DASH diet.

Methods

Subjects

The DASDIA (DASH diet for pregnant women with DIAbetes) randomized controlled clinical trial was carried out in the Maternity School of the Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/Brazil, with the aim to evaluate the effect of the DASH diet on perinatal outcomes in pregnant women with pregestational DM (2016-2020, Brazilian Clinical Trials Registry RBR-4tbqv6). The total sample of the DASDIA trial was 87 women, from whom 70 were included in the present study, since they had valid data for performing the analyses.

The participants were pregnant women with pregestational DM, 18 years or older, less than 28 weeks of pregnancy at the inclusion in the study, single fetus, no alcohol, tobacco or drugs use, no sexually transmitted disease (e.g., syphilis, genital herpes, HPV), no psychiatric

diseases (e.g., anxiety, depression, eating disorders), and no DM complications (e.g., diabetic nephropathy or retinopathy). Women with treated and controlled chronic hypertension (systolic blood pressure <160 mmHg and diastolic blood pressure < 110, using methyldopa, without SHG) or hypothyroidism (TSH 0.1-2.5 mUI/L in the first trimester or 0.3-3.0 mUI/L in the second trimester, using levothyroxine) were included. Randomization was performed in 1:1 ratio to one of the two parallel study groups: traditional diet or DASH diet, using a computer-generated list of random numbers prepared by the head investigator. The participants were blinded to the allocation.

Women with type 1 or type 2 DM were included in this study, with pre-pregnancy diagnostic or diagnosed during pregnancy when presenting a fasting glycemia ≥ 126 mg/dL (ADA, 2021). Following the institution protocol, all the participants were treated with insulin therapy, which was prescribed by the physicians according to the individual needs. Women with gestational DM were not included. For women who initiated the prenatal care before the 16th week of pregnancy, it was prescribed a daily dose of aspirin (100mg), as a preventive measure against PE (ACOG, 2018).

The research was approved by the Ethics Committee of the Maternity School of Federal University of Rio de Janeiro (CAAE – 46913115.0.0000.5275; July/2015).

Diet groups and nutritional guidance

The participants were randomly assigned to one of the two groups of the study: traditional diet or DASH diet and received individual nutritional guidance by a registered dietitian from the date of inclusion on the study until the last prenatal appointment, in six scheduled visits. The time between the inclusion in the study and the childbirth was considered the time of intervention.

Both diets (traditional or DASH) were designed to contain 45–55% carbohydrates, 15–20% protein and 25–30% total fat. The traditional diet was a healthy diet currently prescribed for all pregnant women with DM attending the prenatal care at the local of the study. The DASH diet was richer in fruits, vegetables, whole grains, low-fat dairy products, and included a serving of nuts per day. The North American original version of the DASH diet was translated and adapted for DASDIA trial, considering the characteristics of Brazilian pregnant women with DM, as detailed elsewhere (Saunders et al., 2021).

The main differences in the composition of the traditional and the DASH diet based on 2100 kcal is provided in the **Chart 1**. The daily energy intake was calculated according to the

individual recommendations regarding age, physical activity, pre-pregnancy body mass index (BMI) and expected gestational weight gain. A meal plan with a list of equivalents, based on traditional or DASH diet, was provided for each participant. The meal plan was explained in detail by the registered dietitian and nutritional orientations for both diets were reinforced in all visits.

The participants of the DASH diet group received a bottle of extra virgin olive oil (500 ml) in the first visit, a can of powdered skimmed milk (280 g), and a pack of nuts (150 g) and seeds (200 g) in each subsequent visit and the participants of the traditional diet group received a bottle of extra virgin olive oil (500 ml) in the first visit, a can of powdered semi-skimmed milk (300 mg), and a pack of oats (250 g) in each subsequent visit, to improve the adherence.

To assessing the adherence to diets we used a 24-hour dietary recall and a tool with 4 evaluation items: (1) quantity of food consumed - portions; (2) food groups consumed - variety; (3) consumed meals - number and time; and (4) gestational weight gain – adequate when no more than 20% less or above the recommended. The score could vary from 0 to 4 points (Della Líbera et al., 2011) and was stratified in low to moderate adherence (< 2 points) and high adherence (≥ 2 points). We considered for the present analyses the adherence score obtained in the visit closest to the childbirth, reflecting the longest possible time of exposure to the intervention.

When the calcium intake was estimated < 900 mg/day, a supplement with 500 mg of calcium carbonate was prescribed as a preventive measure against PE, for women after the 20th week of pregnancy, independent of the group (Hofmeyr et al., 2018).

Blood pressure measurements and outcome assessment

The blood pressure was measured in the prenatal visits, by trained nursing technicians using an aneroid sphygmomanometer, with the pregnant woman seated after a minimum 15 minutes of rest. The systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were registered in the medical records, accessible for all the health providers, where this information was sought for the study. The mean blood pressure (MBP) was calculated by the formula $MBP = [SBP + (2 \times DBP)] / 3$.

The main outcome of the study was the development of HDP. The institution protocol for HDP diagnoses followed the international guidelines from the American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG, 2020). Gestational hypertension was the new onset

of SBP \geq 140 mmHg or DBP \geq 90 mmHg at or after 20 weeks' gestation. When gestational hypertension was accompanied by proteinuria (\geq 300 mg / 24-hour urine collection) or new-onset organic disfunctions it was diagnosed as PE. Women who had chronic hypertension, when developed proteinuria, were classified as having superimposed PE.

The HDP diagnoses is a medical assignment, so it was assessed by the researchers in the medical records and confirmed with the attending physician. Time until GH or PE was estimated by linear interpolation between different measurements. The last registered blood pressure of pregnancy was measured in the admission for childbirth.

Genotyping

As genotypic characteristics, common variants of FTO (rs9939609 T/A; rs17817449 T/G) and ADRB2 (rs1042713 G/A ; rs1042714 C/G) were investigated. The participants provided a saliva sample, and the genomic DNA was isolated from buccal epithelial cells using the Aidar and Line (2007) protocol. The polymorphisms were genotyped by real time PCR using TaqMan® assays (ThermoFisher, Carlsbad, CA, USA). Reactions were performed in 10 μ l volumes, containing DNA (2 μ l), Universal Master Mix (5 μ l), TaqMan Genotyping Assay specific for each polymorphism (0.25 μ l) and MiliQ (2.75 μ l). Amplification was carried out in a StepOne® Plus Real Time PCR System (ThermoFisher) using the manufacturer's recommendations for the number of cycles and temperatures. We included a negative and positive controls in the plates.

Co-variates

The co-variates age (years), DM type (1 or 2), education level (elementary, middle, or high school), marital status (married/single), employment (yes/no), *per capita* income (total family income divided by the number of persons living in the same house, in US dollars), housing conditions (adequate when had all: regular garbage collection, tap water, and sewerage system), pre-existing chronic disease (hypothyroidism or hypertension, yes/no) and parity (number of previous childbirths) were obtained from medical records and complemented in a personal interview with the researchers, using structured questionnaires.

The pre-pregnancy BMI was calculated as [pre-pregnancy weight (self-reported) / height² (measured at the first pre-natal visit] and classified as underweight (BMI < 18.5 kg/m²), normal weight (BMI 18.5 - 24.9 kg/m²), overweight (BMI 25.0 - 29.9 kg/m²), or obesity (BMI \geq 30.0 kg/m²) (WHO, 1995). Gestational weight gain was calculated as [weight in the admission for childbirth – pre-pregnancy weight], representing the total weight gain of

pregnancy. The physical activity was assessed at baseline, using the short form of the International Physical Activity Questionnaire – IPAQ-SF (active, irregularly active, and sedentary; Matsudo et al., 2001).

Skin color (white/brown/black/yellow) and years living with DM were self-reported. Gestational age was calculated using the first ultrasonography performed in the prenatal care, obtained at the time of inclusion in the study (all < 28 weeks of pregnancy). Serum glycated hemoglobin concentrations (HbA1c, %) were obtained from the medical records, considering the measure in the date closest to the inclusion in the study.

The cut offs for peaks of SBP, DBP and MBP during pregnancy were > 130 mmHg, > 80 mmHg, and > 100 mmHg, respectively, using the American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA) criteria for stage 1 hypertension (Whelton et al., 2018).

The numerical variables age, gestational weight gain, SBP, DBP, and HbA1c were categorized by the median of the overall sample to compare the risk for HDP between the highest values (above the median) and the lowest values (below the median).

Statistical Analyses

Mann-Whitney U tests were used to compare continuous numerical variables, and Fisher's exact tests were used for categorical demographic and baseline clinical variables. Genotype and allele frequencies of each variant were determined by direct counting, and χ^2 tests evaluated deviations from Hardy-Weinberg equilibrium. Paired linkage-disequilibrium patterns were determined for each gene using r^2 statistics (r^2 cutoff ≥ 0.8).

To analyze SBP, DBP, and MBP measured longitudinally, we used Linear Mixed-effect Models (LMM) considering main components diet (either traditional or DASH), genotypes, or minor allele frequency (MAF) -carrier profiles, and its first-order interaction. Longitudinal patterns were modeled by directly specifying a natural spline term (with two knots) in models. To treat lack of independence given the longitudinal measurements for each pregnant, this term was also included as a random effect given the pregnant. The main effect was also corrected by having confounding variables in the fixed main effect. The results were presented graphically and in tables.

We broke the pregnancy weeks up into 4 segments, (-0.5,6.5], (6.5,19.5], (19.5,32.5], and (32.5,39.5], and estimated marginal mean values and its 95% confidence intervals, where

all other variables in the multiple linear models were kept in their mean values or equal proportions, at conception, week 13 (end of the first trimester), week 27 (end of the second trimester), and at the day of delivery. Contrasts were constructed from these estimated mean marginal effects. p-values were corrected by the number of pairwise comparisons by the Holm-Sidak method. Statistical significance was accepted as $p < 0.05$.

Haplotype frequencies, or rather allelic phase determination, were estimated by expectation maximization (EM algorithm), and estimation uncertainty was included in the statistical models applied for time to event analyses in the form of weights. The homozygous/heterozygous genotypes and lower frequency alleles (MAF) in our population, or containing them, were compared with the higher frequency alleles or genotypes containing lower frequency alleles (reference). Haplotype analyses, similarly, used the most common haplotype in our population as the reference.

The incidences of GH or PE were analyzed based on the events and the years of persons at risk based on the follow-up time from the most likely date of conception to the most probable date of the outcome which manifested first. Incidences and their 95% confidence intervals (95% CI) were estimated according to asymptotic standard errors calculated from a Gamma distribution. Pregnant women who did not experience the outcome were considered from the most likely date of conception and were censored on the day of delivery. The results of the time-to-event analyses were presented in the form of hazard ratios (HR) with their 95% CIs, and the risks of progression to the events described above were estimated via Cox proportional hazard models. The assumption of risk proportionality was tested using correlation analyses and χ^2 tests based on Schoenfeld's scaled residuals and transformed survival times.

In time-to-event, as we did for the longitudinal analyses, the effects of the genetic characteristics of interest were corrected for phenotypic characteristics with at least one suggested association ($p\text{-value} \leq 0.1$) with the outcome of interest, and the marginal effects presented in the form of aHR. Each polymorphism was evaluated in the additive, dominant, and recessive models but some polymorphisms had null incidence of HDP for genotypes analyzed in additive or recessive models, so the results were presented only in the dominant model (comparison between MAF carriers *vs.* MAF non-carriers).

Statistical analyses were performed using R software (version 4.1.1) and its "lme4", "splines", "genetics", and "survival" packages. Power analysis and sample size estimates were

performed *a posteriori* using an R code available at Power and Sample Size platform (<http://powerandsamplesize.com/Calculators/Test-Time-To-Event-Data/Cox-PH-2-Sided-Equality>). Considering the overall prevalence of the event of 23% (16/69), the frequency of minor allele carriers of 0.35, a mean Hazard ratio of 2, and alpha = 0.05, the minimum sample size for Cox proportional models estimated for power (1 - beta) of 0.8 was 312. Nonetheless, we had a limited sample (n=70) that reached a 26.16 % statistical power for this analysis.

Results

From all the pregnant women with pregestational DM accessed for eligibility (n = 249), 87 were included in the DASDIA clinical trial and 70 were included in the present study, since they had sufficient data for the analyses; 29 from the DASH diet group and 41 from the traditional diet group (**Figure 1**).

The median of age was 32 years (IQR 25.7-36.0) and the gestational age at randomization was 15 weeks (IQR 11.1-20.1). DM type 1 was 51.4% (n = 36) of the cases. Most of women had excessive weight; 35.7% had overweight and 35.7% had obesity. Ten women (14.3%) had pregestational chronic hypertension, treating with methyldopa. The median of SBP was 110 mmHg (IQR 100-120) and the median of DBP was 70 mmHg (IQR 62-80). The distribution of the variables was homogeneous among the two diet groups (**Table 1**).

The median time of intervention was 22.50 weeks (IQR 15.50 – 26.04). Most of the pregnant women attended to the 6 scheduled appointments (n=38, 54.3%) or at least 5 of them (n= 16, 22.9%). In the visit closest to the childbirth, 39.5% of the participants in the traditional diet group had the high adherence score and in the DASH diet group the high adherence score was presented by 40.7% of the women.

The genotypic frequencies of rs9939609 - FTO were TT 40%, AT 48.6%, and AA 11.4%, and the rs17817449 - FTO were TT 45.7%, GT 44.3%, and GG 10%; without difference among diet groups (p = 0.48 and p = 0.73, respectively). The MAF for rs9939609 (A) was 35.7% and 32.1% for rs17817449 (G) (**Table 1**).

The genotypic frequencies of rs1042713 – ADRB2 were GG 35.7%, AG 52.9%, and AA 11.4%, and the rs1042714 – ADRB2 were CC 50%, CG 44.3%, and GG 5.7%; without difference among diet groups (p = 0.35 and p = 0.28, respectively). The MAF for rs1042713 (A) was 37.9% and 27.9% for rs1042714 (G) (**Table 1**).

The trajectory of blood pressure during pregnancy had no difference between the diet groups (**Figure 2, Supplementary Table 1**), with an increase in SBP and DBP after 32.5 weeks of pregnancy in both groups. Analyzing the effect of the genotypes on blood pressure during pregnancy, the A allele carriers of FTO rs9939609 had higher SBP, DBP, and MBP than the non-carriers in the overall sample and in the traditional diet group, but not in the DASH diet group, although this effect was not statistically significative (**Supplementary Table 2**). We found no significative effect of FTO rs17817449 or ADRB2 rs1042713 and rs1042714 genotypes and no interaction of these genotypic characteristics with diet on the trajectory of blood pressure, but for rs17817449 and rs1042714 we could note that the SBP, DBP, and MBP were higher in the MAF (G) allele carriers all the time during pregnancy, comparing to the MAF non-carriers (**Supplementary Table 3-5**).

We found no significative effect of diet on the development of GH or PE. Sixteen women (22.86%) developed HDP; 9 (21.95%) in the traditional diet group and 7 (24.14%) in the DASH diet group ($p = 0.87$). The overall cases of GH and PE were 5 (7.14%) and 11 (15.71%), respectively, without statistical difference between the groups: 2 cases (4.88%) of GH in the traditional diet group vs. 3 cases (10.34%) in the DASH diet group ($p = 0.64$), and 7 cases (17.07%) of PE in the traditional diet group vs. 4 cases (13.79%) in the DASH diet group ($p = 0.75$). The cases of GH were developed between 30 and 37 weeks of pregnancy. There were 7 cases of PE developed before 37 weeks of pregnancy, five of them in the traditional diet group; and 2 cases of PE were developed before 34 weeks (one case in each diet group). From 10 women with chronic hypertension, 3 developed superimposed PE (30%), all in the traditional diet group. All cases of PE were diagnosed with proteinuria.

Using either traditional or DASH diet, the phenotypic characteristics associated with the progression to HDP (**Table 2**) were black color of the skin (aHR 8.63; CI 95% 1.85-40.18; $p = 0.01$), the history of PE in previous pregnancy (aHR 11.66; CI 95% 2.22-61.07; $p < 0.01$), peak values of MBP $>$ 100 mmHg during pregnancy (aHR 18.42; CI 95% 1.38-245.98; $p = 0.03$), SBP \geq 114 mmHg in the third trimester (aHR 5.56; CI 95% 1.09-28.42; $p = 0.04$), DBP \geq 70 mmHg in the first trimester (aHR 70.15; CI 95% 1.43-3450.19; $p = 0.03$), and HbA1c \geq 6.41% in the third trimester (aHR 4.76; CI 95% 1.14-19.86; $p = 0.03$). All the 16 women who developed HDP had at least one measure of DBP above 80 mmHg and 12 (75%) of them had at least one measure of SBP above 130 mmHg during pregnancy.

The sociodemographic characteristics: marital status, education level, employment, housing conditions, and family income were not related to development of HDP in our sample

($p > 0.05$). Thus, number of gestations, parity, and history of miscarriage were also not associated with the outcome ($p > 0.05$, data not shown in the tables).

In the adjusted analysis, we found no association between the polymorphisms on FTO and ADRB2 genes and the progression to HDP (**Table 3**), neither in the haplotypes analyses for FTO rs9939609:rs17817449 (TT/AG/AT) and ADRB2 rs1042713:rs1042714 (AC/GC/GG) (**Table 4**).

Discussion

Among dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics assessed, only the phenotypic ones were associated with the development of HDP in our sample. As non-modifiable risk factors were black color of the skin and history of PE in previous pregnancy. As during-pregnancy modifiable risk factors, peak values of MBP > 100 mmHg, SBP ≥ 114 mmHg in the third trimester, DBP ≥ 70 mmHg in the first trimester, and HbA1c $\geq 6.41\%$ in the third trimester. Although we found a suggestive effect of FTO rs9938609 A allele on the trajectory of blood pressure, this effect did not influence the progression to HDP in our sample. Comparing two types of healthy diets (traditional or DASH diet), we found no difference on the risk to development HDP, and no diet-genes interaction, but we noticed that in the DASH diet group there were no cases of superimposed PE.

Asemi et al. (2013) found a slight decrease in the SBP (-2.6 mmHg) after 4 weeks of intervention with DASH diet in 34 Iranian normotensive pregnant women with gestational DM. Courtney et al. (2020) found that higher adherence to DASH diet during pregnancy decreased DBP and MBP in the first and the third trimesters in 511 healthy Irish pregnant women. In our sample, there was no difference in the trajectory of blood pressure between the diet groups.

We found a trajectory of blood pressure similar to the observed in healthy pregnancies, with an increase in SBP and DBP at the end of the pregnancy (Green et al., 2021), which may reflect benefits from the two types of diets. Nutritional guidance is a powerful non-pharmacological approach in the management of DM during pregnancy to avoid adverse outcomes (ADA, 2021). Both the traditional and the DASH diets were healthy eating patterns, guided from registered dietitians to attend the requirements of energy, macro and micronutrients of each pregnant woman, so expected to benefit them.

Fulay et al. (2018) found no association between adherence to DASH diet and incidence of HDP in a retrospective cohort of 1760 healthy north American pregnant women,

but Jiang et al. (2019) found a lower frequency of PE in 85 Japanese pregnant women with chronic or gestational hypertension initiating an intervention with DASH diet before 28 weeks of pregnancy, compared with a control healthy diet (43.2% vs. 65.9%, p= 0.036). The incidence of PE in women with chronic hypertension was high in the Jiang's study, comparing to our sample (30%).

It is interesting to note that we had a higher percentual of women with chronic hypertension allocated in the DASH diet group (20.7% vs. 9.7% in the traditional diet group) but none of them developed superimposed PE, while all the 3 cases happened in the traditional diet group. Thus, we found a higher percentual of GH and lower percentual of PE in the DASH diet group (10.34% and 13.79%, respectively), comparing to traditional diet group (4.88% and 17.07%, respectively). Although not statistical significative, it suggests that there may be a protective effect of DASH diet against progression to PE for the subgroup of women with chronic hypertension or GH, but we are not able to confirm this hypothesis in the present study. Indeed, the results of the effect of DASH diet on HDP are conflicting in the previous studies and did not include women with pregestational diabetes.

Because the genetic background can partially explain the huge variation in the results of studies from different countries or regions, and it can also differentially interact with diet, the nutrigenetics approach has been adding new concerns for the nutritional guidance. A personalized nutrition may be especially beneficial to persons or groups in higher risk for chronic diseases (Ferguson et al., 2016; Kohlmeier et al., 2016).

The ADRB2 gene is involved in the blood pressure regulation via vasodilation signaling and renin-angiotensin system. The GG carriers of ADRB2 rs1042713 and rs1042714 were less responsive to DASH diet on the blood pressure decrease in a sample of adults with stage 1 hypertension after one-month intervention (Svetkey et al., 2011), but in our sample of Brazilian pregnant women with DM it was not corroborated. Pregnancy is a state of intense adaptation in the cardiovascular system, including changes in the renin-angiotensin-related pathways (Doherty et al., 2020), which could implicate in different effects of the gene-diet interaction in maternal metabolism.

Although the pregestational obesity is considered a moderate risk factor for HDP (ACOG, 2020), in our sample we found no higher risk for women with overweight or obesity, comparing to normal weight. FTO is the gene most related to obesity, and the adverse cardiometabolic effects of its polymorphisms are mostly mediated by the excessive adipose tissue (Ganeff et al., 2019). In this same sample of Brazilian pregnant women with

pregestational DM, we found no association of FTO rs9939609 and rs17817449 polymorphisms with the pregestational BMI. It could explain, at least partially, the absence of association between FTO genotypes and HDP, as the genotype did not influence in the main mediating factor (BMI) for high blood pressure.

However, we found a suggestive effect of A allele of rs9939609 on the blood pressure trajectory during pregnancy, being higher in the traditional diet group but not in the DASH diet group. As FTO can interact with diet characteristics to define a phenotype, maybe women who are carriers of the A allele could benefit more of the DASH diet than the non-carriers for the blood pressure control. We think that this possible relationship should be investigated in a bigger sample, as we cannot state properly about it with our results.

The black color of the skin is a well-documented risk factor for hypertension and black patients use to have the lowest rates of BP control in clinical settings. Some studies pointed that not only ancestrally, but also the socioeconomic disparities between races could explain the differences (Fontil et al., 2021; Ogunniyi et al., 2021). We found an 8.63 higher risk (CI95% 1.85-40.18) to develop HDP in black women comparing to women with brown skin, the majority in our sample, without influence of socioeconomic status, which indicates that ancestrally may be an important component. Regarding the evaluated polymorphisms in FTO and ADRB2 genes, there was no difference in the MAF between the different colors of the skin, but it should be noted that more than 900 *loci* are associated with BP control and genetic variants varies among races (Evangelou et al., 2018). Thus, inheritance of other genetic variants not included in our study but presented in people with black color of the skin may explain the ancestral higher risk of HDP in this population.

Identifying women in high risk for PE by clinical factors early in pregnancy is a useful strategy to mitigate the adverse impacts in maternal and child health. Bartsch et al. (2016) evaluated more than 25 million pregnancies in a meta-analysis including 92 studies and found that the history of PE in a previous pregnancy was the clinical factor with greatest pooled relative risk for PE (RR 8.4; CI95% 7.1 - 9.9). In our sample we found an aHR of 11.66 (CI 95% 2.22-61.07) for HDP, corroborating the Bartsch's study. On the other hand, nulliparity, chronic hypertension, obesity, and maternal age, which is recognized as risk factors by ACOG (2020), were not risk factors for HDP in our sample. Although, it is important to note that pregestational DM is also a high-risk factor for PE, which is present in all women from our sample.

The glycemic control before and during pregnancy is strongly recommended to prevent PE and other adverse outcomes as congenital anomalies, macrossomia and preterm birth in pregnancies with DM. The American Diabetes Association (ADA, 2021) recommends that women with pregestational DM achieves HbA1c < 6.5% before conception and a target of < 6% during pregnancy, which can be relaxed to < 7% if it is necessary to prevent hypoglycemia (ADA, 2021). Indeed, we found that highest HbA1c in the third trimester ($> 6.41\%$) increased in almost 5 times the risk progression to HDP (aHR 4.76; CI95% 1.14-19.86), but we found no effect of HbA1c in the first and the second trimesters on the HDP risk. As part of the public health service in Brazil, the local of the study provided for all the participants the insulin kits without any cost, as well a personalized guidance on insulin therapy and DM management during pregnancy by a multi-professional team of physicians, nurses, and the registered dietitians of the study, which is highly recommended to improve the glycemic control during pregnancy (ADA, 2021).

The screening for HDP is recommended for all pregnant women by measuring BP at every prenatal visit (ACOG, 2020). For women with pregestational DM and chronic hypertension, the ADA recommends a BP target of 110-135/85 mmHg to reduce the risk for HDP and minimize impaired fetal growth (ADA, 2021). In our sample, the median values of the BP during pregnancy were mostly within the target, but DBP ≥ 70 mmHg in the first trimester and SBP ≥ 114 mmHg in the third trimester were risk factors for developing HDP, both representing the values above the median of the overall sample.

Since 2017, the ACC/AHA recommends the use of cut-offs for stage 1 hypertension of 130 mmHg SBP and/or 80 mmHg DBP (Whelton et al., 2018), which was not reflected in the criteria for diagnosing HDP by ACOG bulletins (ACOG, 2020) neither by the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP) guidelines (Magee et al., 2021). However, studies have been suggesting the use of ACC/AHA criteria to earlier identify women in higher risk for HDP and adverse maternal/fetal outcomes (Bello et al., 2021; Darwin et al., 2021; McLaren et al., 2021).

Darwin et al. (2021) found a threefold higher risk for PE in women with ACC/AHA stage 1 hypertension in the first trimester comparing with normotensive women. Bello et al. (2021) found that the use of the ACC/AHA criteria to diagnose hypertension during pregnancy resulted in a 20.8% improvement in the appropriate identification of future PE, but McLaren et al. (2021) found that the rate of PE among women with hypertension by

ACC/AHA criteria was not significantly different from the rate among women with hypertension by ACOG criteria.

In our sample, all women who developed HDP had at least one measure of DBP above 80 mmHg and 75% of them had at least one measure of SBP above 130 mmHg during pregnancy. Peaks of MBP > 100 mmHg during pregnancy, at least one, increased in 18.42 times the risk for HDP (aHR 18.42; CI 95% 1.38-245.98). So, we can hypothesize that in women with pregestational DM the ACC/AHA cut-offs values for BP may be an alert to the risk of HDP, which deserves more investigation.

This study has three main limitations. Firstly, the sample size was originally calculated to analyze the effect of the two types of diets on perinatal outcomes in the DASDIA clinical trial, which limited our statistical power for the analyses integrating dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics. However, the results presented in this study are pioneer in applying the nutrigenetics approach to evaluate HDP as outcome. We consider that the knowledge on possible gene-diet interactions during pregnancy may benefit maternal and child health with a personalized nutrition, especially in high-risk pregnancies, such those with pregestational DM. Bigger samples in future studies may help to clarify some hypotheses we presented here, that we could not certainty conclude because this limitation.

Second, the COVID-19 pandemic forced us to make adaptations to maintain the follow-up of the study. In 2020, the prenatal visits to the physicians were maintained in the local of the study, but for the research (nutritional guidance and data collection) we used telemedicine to complete the follow-up of 6 women (8.6% of the sample) who were already enrolled in the study at the beginning of the pandemic quarantine. We used the same study protocol of the presential visits. Once pandemic quarantine started, we did not include more participants in the study.

Finally, PE is more dangerous to maternal and fetal health than GH (ACOG, 2020). Thus, the early-onset pre-eclampsia (before 34 weeks of pregnancy) may have a more severe course than the disease developed after 34 weeks, with more adverse maternal and fetoplacental conditions and severe complications (Wójtowicz et al., 2019). We analyzed all cases of HDP together (GH and PE at any time of pregnancy) given our study design and sample, but these differences may be considered in designing future studies in this field, once the dietetic, phenotypic and genetic characteristics may differentially interact according to the disease severity.

Conclusion

In this study we investigated dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics influencing the development of HDP in women with pregestational DM. We found no difference between the DASH diet and the traditional diet on the risk for HDP, but we found a suggestive benefit of the DASH diet for women with chronic hypertension and GH against the progression to PE, which is quite relevant for clinical practice and deserves future investigation.

The polymorphisms on FTO and ADRB2 genes did not influence the progression to HDP, but the A allele carriers for rs9939609 in the FTO gene seems to benefit more of the DASH diet than the non-carriers for the blood pressure control. This effect was not statistically significative, but we think that this possible relationship should be investigated in a bigger sample, as this may be a clue to personalized nutrition.

We found that black color of the skin, history of PE in previous pregnancy, SBP \geq 114 mmHg in the third trimester, DBP \geq 70 mmHg in the first trimester, HbA1c \geq 6.41% in the third trimester, and peak values of MBP $>$ 100 mmHg during pregnancy were the phenotypic risk factors for HDP in our sample. Identifying women in higher risk for HDP using clinical parameters is a valuable strategy to increase prenatal care and reduce maternal and neonatal morbidity and mortality among women with pregestational diabetes.

Our results of non-association need to be interpreted with caution because our limited statistical power. Future studies integrating dietetic, phenotypic, and genotypic characteristics in larger samples should be implemented to clarify about personalized nutrition during pregnancy and its effects on maternal and child health.

References

- Agius A, Sultana R, Camenzuli C et al. An update on the genetics of pre-eclampsia. *Minerva Ginecol.* 2018 Aug;70(4):465-479. doi:10.23736/S0026-4784.17.04150-8.
- Aidar M, Line SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J*, v. 18, n. 2, p. 148-152, 2007.
- Allen R, Rogozinska E, Sivarajasingam P, et al. Effect of diet- and lifestyle-based metabolic risk-modifying interventions on preeclampsia: a meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014 Oct;93(10):973-85. doi:10.1111/aogs.12467.

American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol.* 2020 Jun;135(6):e237-e260. doi:10.1097/AOG.0000000000003891.

American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). ACOG Committee Opinion No. 743: Low-Dose Aspirin Use During Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2018 Jul;132(1):e44-e52. doi: 10.1097/AOG.0000000000002708.

American Diabetes Association. 14. Management of Diabetes in Pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care.* 2021 Jan; 44(Supplement 1): S200-S210. doi:10.2337/dc21-S014.

Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, et al. High Risk of Pre-eclampsia Identification Group. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ.* 2016;353:i1753. Published 2016 Apr 19. doi:10.1136/bmj.i1753.

Bello NA, Zhou H, Cheetham TC, et al. Prevalence of Hypertension Among Pregnant Women When Using the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Blood Pressure Guidelines and Association With Maternal and Fetal Outcomes. *JAMA Netw Open.* 2021 Mar 1;4(3):e213808. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.3808.

Darwin KC, Federspiel JJ, Schuh BL, Baschat AA, Vaught AJ. ACC-AHA Diagnostic Criteria for Hypertension in Pregnancy Identifies Patients at Intermediate Risk of Adverse Outcomes. *Am J Perinatol.* 2021 Aug;38(S 01):e249-e255. doi: 10.1055/s-0040-1709465.

Doherty A, McLaughlin K, Kingdom JC. Hemodynamic Complications in Pregnancy: Preeclampsia and Beyond. *Clin Perinatol.* 2020 Sep;47(3):653-670. doi: 10.1016/j.clp.2020.05.014.

Eisenach JH, Wittwer ED. {beta}-Adrenoceptor gene variation and intermediate physiological traits: prediction of distant phenotype. *Exp Physiol.* 2010 Jul;95(7):757-64. doi:10.1113/expphysiol.2009.048330.

Eisenach JH, Schroeder DR, Pavéy ES, et al. Interactions between beta-2 adrenoceptor gene variation, cardiovascular control and dietary sodium in healthy young adults. *J Physiol.* 2014 Dec 1;592(23):5221-33. doi:10.1113/jphysiol.2014.276469.

Evangelou E, Warren HR, Mosen-Ansorena D, et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits [published correction appears in Nat Genet. 2018 Dec;50(12):1755]. Nat Genet. 2018;50(10):1412-1425. doi:10.1038/s41588-018-0205-x.

Ferguson LR, De Caterina R, Görman U, et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalised Nutrition: Part 1 - Fields of Precision Nutrition. J Nutrigenet Nutrigenomics. 2016;9(1):12-27. doi: 10.1159/000445350.

Fonseca ACPD, Marchesini B, Zembrzuski VM, et al. Genetic variants in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene confer risk for extreme obesity and modulate adiposity in a Brazilian population. Genet Mol Biol. 2020;43(1):e20180264. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2018-0264.

Fontil V, Pacca L, Bellows BK, Khoong E, McCulloch CE, Pletcher M, Bibbins-Domingo K. Association of Differences in Treatment Intensification, Missed Visits, and Scheduled Follow-up Interval With Racial or Ethnic Disparities in Blood Pressure Control. JAMA Cardiol. 2021 Dec 8. doi: 10.1001/jamacardio.2021.4996. Epub ahead of print.

Ganef IM, Bos MM, van Heemst D, Noordam R. BMI-associated gene variants in FTO and cardiometabolic and brain disease: obesity or pleiotropy? Physiol Genomics. 2019 Aug 1;51(8):311-322. doi: 10.1152/physiolgenomics.00040.2019.

Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah ÁN et al. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. Cochrane Database Syst Rev. 2018 Oct 1;10(10):CD001059. doi:10.1002/14651858.

Kohlmeier M, De Caterina R, Ferguson LR, et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalized Nutrition: Part 2 - Ethics, Challenges and Endeavors of Precision Nutrition. J Nutrigenet Nutrigenomics. 2016;9(1):28-46. doi: 10.1159/000446347.

Li S, Gan Y, Chen M, et al. Effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) on Pregnancy/Neonatal Outcomes and Maternal Glycemic Control: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials. *Complement Ther Med.* 2020 Nov;54:102551. doi:10.1016/j.ctim.2020.102551.

Magee LA, Brown MA, Hall DR et al. The Hypertensive Disorders of Pregnancy: The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy Classification, Diagnosis &

Management Recommendations for International Practice. *Pregnancy Hypertens.* 2021. doi:10.1016/j.preghy.2021.09.008.

Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reproducibilidade no Brasil. RBAFS 2001; 6(2): 5–18.

McLaren RA, Atallah F, Persad VVD, et al. Pregnancy outcomes among women with American College of Cardiology- American Heart Association defined hypertension. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021 Dec;34(24):4097-4102. doi: 10.1080/14767058.2019.1704250.

Mehrdad M, Vahid F, Shivappa N, et al. High dietary inflammatory index (DII) scores increase odds of overweight in adults with rs9939609 polymorphism of FTO gene. *Clin Nutr ESPEN.* 2021 Apr;42:221-226. doi:10.1016/j.clnesp.2021.01.034.

Ogunniyi MO, Commodore-Mensah Y, Ferdinand KC. Race, Ethnicity, Hypertension, and Heart Disease: JACC Focus Seminar 1/9. *J Am Coll Cardiol.* 2021 Dec 14;78(24):2460-2470. doi: 10.1016/j.jacc.2021.06.017.

Rezende KB, Bornia RG, Esteves AP, Cunha AJ, Amim Junior J. Preeclampsia: Prevalence and perinatal repercussions in a University Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Pregnancy Hypertens.* 2016 Oct;6(4):253-255. doi: 10.1016/j.preghy.2016.08.229.

Saunders C, Moreira TM, Belfort GP, et al. Procedimentos metodológicos para elaboração de plano alimentar adaptado baseado na dieta DASH para gestantes com diabetes mellitus. *Brazilian Journal of Development,* 2021.

Steinthorsdottir V, McGinnis R, Williams NO, et al. Genetic predisposition to hypertension is associated with preeclampsia in European and Central Asian women. *Nat Commun.* 2020 Nov 25;11(1):5976. doi:10.1038/s41467-020-19733-6.

Svetkey LP, Sacks FM, Obarzanek E, et al. The DASH Diet, Sodium Intake and Blood Pressure Trial (DASH-sodium): rationale and design. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *J Am Diet Assoc.* 1999;99(8 Suppl):S96–104.

Svetkey LP, Harris EL, Martin E, et al. Modulation of the BP response to diet by genes in the renin-angiotensin system and the adrenergic nervous system. *Am J Hypertens.* 2011 Feb;24(2):209-17. doi:10.1038/ajh.2010.223.

Yang Q, Xiao T, Guo J, Su Z. Complex Relationship between Obesity and the Fat Mass and Obesity Locus. *Int J Biol Sci.* 2017 May 15;13(5):615-629. doi: 10.7150/ijbs.17051.

Weissgerber TL, Mudd LM. Preeclampsia and diabetes. *Curr Diab Rep.* 2015 Mar;15(3):9. doi:10.1007/s11892-015-0579-4.

Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension.* 2018;71:e13–e115. doi: 10.1161/HYP.0000000000000065.

World Health Organization (WHO). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. v. 452, p. 1–542, 1995.

Wójtowicz A, Zembala-Szczerba M, Babczyk D, Kołodziejczyk-Pietruszka M, Lewaczyńska O, Huras H. Early- and Late-Onset Preeclampsia: A Comprehensive Cohort Study of Laboratory and Clinical Findings according to the New ISHHP Criteria. *Int J Hypertens.* 2019 Sep 17;2019:4108271. doi: 10.1155/2019/4108271.

Chart 1 – Daily composition of the diets used in the study.

	Traditional Diet	DASH Diet
Saturated fatty acids*	9.7% E	7.2% E
Monounsaturated fatty acids*	8.5% E	9.2% E
Polyunsaturated fatty acids*	2.8% E	5.6% E
Fiber	42g	55g
Calcium	1500 mg	2280 mg
Magnesium	315 mg	496 mg
Potassium	4081 mg	4418 mg
Sodium	2400 mg	2400 mg

* Expressed as percentual of daily energy intake (% E).

Data are presented for a daily energy intake of 2100 kcal, as an example.

Table 1 – Characteristics of the study participants at baseline according to the diet groups.

	Overall n= 70	Traditional Diet n= 41	DASH Diet n=29	p- value*
Age (years)	32 (25.7 – 36.0)	31 (25.0 – 35.0)	34 (28 – 37)	0.28
Gestational age (weeks)	15.0 (11.1 – 20.1)	14.4 (11.6 – 21.6)	16.0 (10.1 – 18.6)	0.66
Skin color n (%)				
Brown	27 (38.6)	15 (36.6)	12 (41.4)	
White	22 (31.4)	12 (29.3)	10 (34.5)	
Black	16 (22.9)	11 (26.8)	5 (17.2)	0.59
Yellow	1 (1.4)	0 (0)	1 (3.4)	
Unknown	4 (5.7)	3 (7.3)	1 (3.4)	
Marital status n (%)				
Married	56 (80.0)	33 (80.5)	23 (79.3)	
Single	12 (17.1)	6 (14.6)	6 (20.7)	0.57
<i>Missing</i>	2 (2.9)	2 (4.9)	0 (0)	
Education level n (%)				
Elementary/middle school	46 (65.7)	26 (63.4)	20 (69)	
High school	23 (32.9)	14 (34.2)	9 (31)	0.73
<i>Missing</i>	1 (1.4)	1 (2.4)	0 (0)	
Employment n (%)				
Yes	42 (60.0)	26 (63.4)	16 (55.2)	
No	27 (38.6)	14 (34.1)	13 (44.8)	0.41
<i>Missing</i>	1 (1.4)	1 (2.4)	0 (0)	
per capita income (US dollars†)	151.51 (103.04 – 227.27)	154.54 (113.33 – 228.78)	136.36 (91.67 – 221.04)	0.59
Housing Conditions n (%)				
Proper sanitation	64 (91.4)	37 (90.2)	27 (93.1)	
No proper sanitation	3 (4.3)	2 (4.9)	1 (3.4)	1.00
<i>Missing</i>	3 (4.3)	2 (4.9)	1 (3.4)	
Parity	1 (0 – 1.25)	1 (0 – 1.5)	1 (0 – 1.5)	0.92
Pre-pregnancy BMI (kg/m²)	27.85 (24.4 – 32.3)	27.10 (24.3 – 31.9)	28.60 (25.7 -33.3)	0.16
Chronic hypertension n (%)				
No	56 (80.0)	33 (80.5)	23 (79.3)	
Yes	10 (14.3)	4 (9.7)	6 (20.7)	0.31
<i>Missing</i>	4 (5.7)	4 (9.8)	0 (0)	
Physical Activity n (%)				
Active	30 (42.9)	15 (36.6)	15 (51.7)	
Irregularly active	27 (38.6)	17 (41.5)	10 (34.5)	0.51
Sedentary	7 (10.0)	5 (12.1)	2 (6.9)	
<i>Missing</i>	6 (8.6)	4 (9.8)	2 (6.9)	
DM type n (%)				
DM1	36 (51.4)	21 (51.2)	15 (51.7)	0.97
DM2	34 (48.6)	20 (48.8)	14 (48.3)	
Years living with DM	8 (2.0 – 13.5)	6 (1.9 – 12.5)	9 (2 – 14.5)	0.36
SBP (mmHg)	110 (100 – 120)	110 (100 – 120)	110 (100 – 120)	0.90
DBP (mmHg)	70 (62 – 80)	70 (60 – 80)	70 (70 – 80)	0.14
Calcium supplement n (%)				
No	60 (85.7)	37 (90.2)	23 (79.3)	0.30
Yes	10 (14.3)	4 (9.8)	6 (20.7)	
HbA1c (%)	6.8 (6.2-7.9)	6.8 (6.1-7.7)	6.9 (6.4-8.0)	0.28
FTO rs9939609				
TT	28 (40)	17 (41.5)	11 (37.9)	
AT	34 (48.6)	21 (51.2)	13 (44.8)	0.48
AA	8 (11.4)	3 (7.3)	5 (17.2)	
T Allele	90 (64.3)	55 (67.1)	35 (60.3)	
A Allele	50 (35.7)	27 (32.9)	23 (39.7)	

FTO rs17817449

TT	32 (45.7)	19 (46.3)	13 (44.8)	
GT	31 (44.3)	19 (46.3)	12 (41.4)	0.73
GG	7 (10.0)	3 (7.3)	4 (13.8)	
T Allele	95 (67.9)	57 (69.5)	38 (65.5)	
G Allele	45 (32.1)	25 (30.5)	20 (34.5)	
ADRB2 rs1042713 n (%)				
GG	25 (35.7)	12 (29.3)	13 (44.8)	
AG	37 (52.9)	23 (56.1)	14 (48.3)	0.35
AA	8 (11.4)	6 (14.6)	2 (6.9)	
G Allele	87 (62.1)	47 (57.3)	40 (69.0)	
A Allele	53 (37.9)	35 (42.7)	18 (31.0)	
ADRB2 rs1042714 n (%)				
CC	35 (50.0)	20 (48.3)	15 (51.7)	
CG	31 (44.3)	17 (41.5)	14 (48.3)	0.28
GG	4 (5.7)	4 (9.8)	0 (0)	
C Allele	101 (72.1)	57 (69.5)	44 (75.9)	
G Allele	39 (27.9)	25 (30.5)	14 (24.1)	

DM: diabetes mellitus, BMI: body mass index, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, HbA1c: serum glycated hemoglobin concentrations, FTO: fat mass and obesity-associated gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

†Estimated for exchange rate of 1 real (R\$) = 5.5 US dollars.

Data presented as median (interquartile range) or as absolute and relative frequencies n (%).

* Mann–Whitney U test or Kruskal-Wallis test to compare medians and Chi-square test to compare frequencies.

Table 2 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to development of HDP), analyzing dietetic and phenotypic characteristics.

Characteristics	Outcome	pY	Crude Incidence/ 100 pY (CI95%)	HR (CI95%)	p value	aHR* (CI95%)	p value
Overall	16	49.22	32.51 (18.58-52.79)	-	-	-	-
Diet							
Traditional diet	9	28.38	31.71 (14.50-60.19)	Reference	-	Reference	-
DASH diet	7	20.83	33.60 (13.51-69.23)	0.98 (0.36 – 2.64)	0.97	0.81 (0.25 – 2.61)	0.72
Type of DM							
DM1	9	24.82	36.26 (16.58-68.84)	Reference	-	Reference	-
DM2	7	24.4	28.69 (11.54-59.12)	0.73 (0.27 – 1.96)	0.53	0.22 (0.04 – 1.12)	0.07
Age (years)							
< 32	8	25.72	31.11 (13.43-61.30)	Reference	-	Reference	-
≥ 32	8	23.50	34.04 (14.7-67.08)	1.03 (0.39 – 2.76)	0.95	0.74 (0.23 – 2.35)	0.60
Color of the skin							
Brown	5	19.40	25.78 (8.37-60.16)	Reference	-	Reference	-
White	3	15.17	19.77 (4.08-57.78)	0.73 (0.17 – 3.07)	0.67	1.10 (0.19-6.32)	0.91
Black	7	11.07	63.22 (25.42-130.26)	3.73 (1.17-11.91)	0.03	8.63 (1.85-40.18)	0.01
Pre-pregnancy BMI							
Normal weight	3	13.67	21.94 (4.52-64.12)	Reference	-	Reference	-
Overweight	6	17.57	34.14 (12.53-74.31)	1.80 (0.45-7.20)	0.41	2.69 (0.31-23.33)	0.37
Obesity	7	17.97	38.96 (15.66-80.27)	1.82 (0.47-7.03)	0.39	1.37 (0.18-10.49)	0.76
Gestational weight gain							
< 12.2	9	24.28	37.07 (16.95-70.37)	Reference	-	Reference	-
≥ 12.2	7	24.24	28.88 (11.61-59.50)	0.82 (0.30-2.20)	0.69	1.47 (0.35-6.24)	0.60
Previous HDP							
None	9	26.45	34.03 (15.56-64.59)	Reference	-	Reference	-
Pre-eclampsia	3	4.76	62.97 (12.99-184.04)	3.18 (0.85 -11.95)	0.09	11.66 (2.22-61.07)	<0.01
Chronic disease							
None	9	34.20	26.32 (12.03-49.96)	Reference	-	Reference	-
Chronic hypertension	3	6.36	47.15 (9.72-137.79)	1.73 (0.47-6.44)	0.41	1.93 (0.47-7.98)	0.36
Hypothyroidism	3	5.76	52.08 (10.74-152.2)	1.82 (0.49-6.73)	0.37	1.02 (0.13-7.93)	0.98
SBP peak > 130 mmHg							
No	4	24.48	16.34 (4.45-41.84)	Reference	-	Reference	-
Yes	12	24.74	48.51 (25.07-84.74)	3.38 (1.09-10.48)	0.03	3.98 (0.96-16.41)	0.06
DBP peak > 80 mmHg							
No	0	11.62	0	Reference	-	Reference	-
Yes	16	37.60	42.55 (24.32-69.10)	#	-	#	-

MBP peak > 100 mmHg							
No	1	23.85	4.19 (0.11-23.36)	Reference	-	Reference	-
Yes	15	25.37	59.13 (33.1-97.53)	17.67 (2.33-134.04)	<0.01	18.42 (1.38-245.98)	0.03
SBP 1° trimester (mmHg)							
< 111	4	11.45	34.94 (9.52-89.45)	Reference	-	Reference	-
≥ 111	6	12.02	49.92 (18.32-108.65)	1.55 (0.44-5.51)	0.50	1.70 (0.20-14.49)	0.63
SBP 2° trimester (mmHg)							
< 111	6	23.80	25.21 (9.25-54.87)	Reference	-	Reference	-
≥ 111	9	21.86	41.17 (18.83-78.16)	1.86 (0.66-5.24)	0.24	3.03 (0.71-12.86)	0.13
SBP 3° trimester (mmHg)							
< 114	3	25.31	11.85 (2.44-34.64)	Reference	-	Reference	-
≥ 114	13	23.91	54.38 (28.95-92.99)	5.81 (1.65-20.44)	0.01	5.56 (1.09-28.42)	0.04
DBP 1° trimester (mmHg)							
< 70	3	12.90	23.25 (4.79-67.94)	Reference	-	Reference	-
≥ 70	7	10.57	66.25 (26.64-136.51)	3.31 (0.85-12.80)	0.08	70.15 (1.43-3450.19)	0.03
DBP 2° trimester (mmHg)							
< 69.7	7	23.79	29.42 (11.83-60.63)	Reference	-	Reference	-
≥ 69.7	8	21.87	36.58 (15.79-72.08)	1.40 (0.51-3.87)	0.51	1.54 (0.40-5.98)	0.53
DBP 3° trimester (mmHg)							
< 72	6	25.26	23.76 (8.72-51.71)	Reference	-	Reference	-
≥ 72	10	23.96	41.74 (20.01-76.76)	2.08 (0.75-5.73)	0.16	3.34 (0.81-13.76)	0.09
HbA1c 1° trimester (%)							
< 7.77	3	10.69	28.05 (5.79-81.98)	Reference	-	Reference	-
≥ 7.77	3	10.78	27.84 (5.74-81.36)	0.89 (0.18-4.44)	0.89	1.28 (0.08-21.01)	0.86
HbA1c 2° trimester (%)							
< 6.47	4	22.49	17.78 (4.85-45.53)	Reference	-	Reference	-
≥ 6.47	9	21.71	41.45 (18.95-78.69)	3.33 (1.01-10.94)	0.05	2.26 (0.46-11.02)	0.31
HbA1c 3° trimester (%)							
< 6.41	3	19.55	15.35 (3.17-44.86)	Reference	-	Reference	-
≥ 6.41	6	18.24	32.89 (12.07-71.59)	2.75 (0.68-11.05)	0.15	4.76 (1.14-19.86)	0.03

pY: person-years, CI: confidence interval, DASH: Dietary Approach to Stop Hypertension, HDP: hypertensive disorders of pregnancy, DM: diabetes mellitus, BMI: body mass index, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, MBP: mean blood pressure. HbA1c: serum glycated hemoglobin concentrations. Normal weight: BMI = 18.5 to 24.9 kg/m², Overweight: BMI = 25 to 29.9 kg/m², Obesity: BMI ≥ 30 kg/m². Numerical variables categorized by the median of the sample.

*Adjusted for color of the skin, previous HDP, family income, and years living with DM.

Null incidence for the reference category.

Table 3 – Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to development of HDP), analyzing genotypic characteristics: FTO and ADRB2 polymorphisms (rs9939609, rs17817449, rs1042713, and rs1042714).

	Outcome	pY	Crude Incidence/100pY (CI95%)	HR (CI95%)	p- value	aHR* (CI95%)	p- value
Overall	16	49.22	32.51 (18.58-52.79)	-	-	-	-
FTO rs9939609							
TT	8	19.83	40.35 (17.42-79.5)	Reference	-	Reference	-
AT/AA	8	29.39	27.22 (11.75-53.64)	0.64 (0.24-1.71)	0.38	0.68 (0.22-2.10)	0.50
FTO rs17817449							
TT	10	22.67	44.11 (21.15-81.12)	Reference	-	Reference	-
GT/GG	6	26.55	22.60 (8.29-49.19)	0.46 (0.17-1.28)	0.14	0.63 (0.20-1.96)	0.42
ADRB2 rs1042713							
GG	4	17.80	22.47 (6.12-57.52)	Reference	-	Reference	-
AG/AA	12	31.41	38.20 (19.74-66.73)	1.60 (0.52-4.98)	0.41	1.59 (0.43-5.94)	0.49
ADRB2 rs1042714							
CC	8	24.40	32.79 (14.16-64.61)	Reference	-	Reference	-
GC/GG	8	24.82	32.23 (13.92-63.51)	1.05 (0.39-2.79)	0.93	1.87 (0.61-5.72)	0.27

Results for comparison between MAF carriers vs. MAF non-carriers.

pY: person-years, CI: confidence interval, HDP: hypertensive disorders of pregnancy. MAF: minor allele frequency. FTO: fat mass and obesity-associated gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

*Adjusted for DM type, color of the skin, and previous HDP.

Table 4 - Cox-Proportional hazard models, or time-to-event analyses (from conception to development of HDP), analyzing the haplotypes ADRB2 rs1042713:rs1042714 and FTO rs9939609:rs17817449.

Characteristics	Outcome	pY	Crude Incidence/ 100 pY (CI95%)	HR (CI95%)	p value	aHR* (CI95%)	p value
ADRB2 rs1042713:rs1042714							
AC	13	36.45	35.67 (18.99-60.99)	-	-	-	-
GC	11	34.38	31.99 (15.97-57.24)	0.90 (0.40-2.01)	0.79	0.79 (0.34-1.82)	0.58
GG	8	27.60	28.98 (12.51-57.11)	0.88 (0.36-2.12)	0.77	1.09 (0.43-2.76)	0.85
FTO rs9939609:rs17817449							
TT	24	62.44	38.44 (24.63-57.19)	-	-	-	-
AG	6	30.91	19.41 (7.12-42.25)	0.46 (0.19-1.13)	0.08	0.52 (0.20-1.35)	0.24
AT	2	4.34	46.09 (5.58-166.48)	1.14 (0.27-4.84)	0.85	0.60 (0.11-3.35)	0.57

pY: person-years, CI: confidence interval, HDP: hypertensive disorders of pregnancy, FTO: fat mass and obesity-associated gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

*Adjusted for DM type, color of the skin, and previous HDP.

Supplementary Table 1 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy in the diet groups.

		< 6.5 weeks	6.5 to 19.5 weeks	19.5 to 32.5 weeks	> 32.5 weeks	p-value*
SBP	Trad.	121.09	115.30	117.03	131.08	0.71
	diet	(113.89 – 128.28)	(108.89 – 121.71)	(110.86 – 123.20)	(122.43 – 139.72)	
DBP	DASH	120.13	114.34	116.08	130.12	0.62
	diet	(113.24 – 127.03)	(108.26 – 120.43)	(110.24 – 121.91)	(121.72 – 138.53)	
DBP	Trad.	80.26	74.09	74.62	86.02	0.62
	diet	(74.18 – 86.34)	(68.64 – 79.55)	(69.27 – 79.96)	(78.96 – 93.08)	
DBP	DASH	79.42	73.25	73.78	85.18	0.62
	diet	(73.59 – 85.26)	(68.05 – 78.46)	(68.68 – 78.88)	(78.32 – 92.05)	

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; Trad. diet: Traditional diet.

Data are expressed as mean (CI 95%).

* Adjusted for DM type, previous HDP, pre-pregnancy BMI, chronic disease (hypertension or hypothyroidism), and housing conditions.

Supplementary Table 2 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs9939609 FTO genotype (A allele carriers *vs.* non-carriers) and interaction with diet.

		< 6.5 weeks			6.5 to 19.5 weeks			19.5 to 32.5 weeks			> 32.5 weeks			p^{*a}	p^{*b}	p^{*c}
		Overall	Trad Diet	DASH Diet												
SBP	TT	118.54 (111.36 – 125.72)	117.59 (109.46 – 125.73)	120.36 (111.69 – 129.03)	112.76 (106.37 – 119.16)	111.83 (104.40 – 119.26)	114.59 (106.55 – 122.63)	114.52 (108.36 – 120.67)	113.59 (106.37 – 120.82)	116.36 (108.48 – 124.24)	128.59 (119.93 – 137.25)	127.67 (118.21 – 137.13)	130.44 (120.48 – 140.41)	0.22	0.31	0.99
	AT/	121.52	123.06	119.40	115.74	117.29	113.63	117.50	119.06	115.40	131.57	133.14	129.48			
	AA	(114.80 – 128.24)	(115.56 – 130.56)	(111.84 – 126.96)	(109.87 – 121.61)	(110.56 – 124.03)	(106.83 – 120.44)	(111.86 – 123.14)	(112.51 – 125.61)	(108.79 – 122.01)	(123.22 – 139.92)	(124.12 – 142.16)	(120.45 – 138.51)			
DBP	TT	77.67 (71.59 – 83.74)	76.58 (69.93 – 83.23)	78.84 (72.19 – 85.50)	71.47 (66.07 – 76.88)	70.38 (64.34 – 76.42)	72.65 (66.58 – 78.71)	71.99 (66.71 – 77.28)	70.91 (64.98 – 76.84)	73.17 (67.19 – 79.16)	83.44 (76.42 – 90.46)	82.39 (74.85 – 89.94)	84.66 (77.06 – 92.26)	0.06	0.08	0.99
	AT/	80.58	81.64	78.54	74.39	75.44	72.34	74.91	75.97	72.88	86.35	87.45	84.36			
	AA	(74.91 – 86.25)	(75.60 – 87.67)	(72.44 – 84.64)	(69.43 – 79.34)	(70.08 – 80.80)	(66.89 – 77.80)	(70.07 – 79.75)	(70.70 – 81.24)	(67.51 – 78.24)	(79.62 – 93.08)	(80.36 – 94.54)	(77.23 – 91.48)			
MBP	TT	90.37 (83.79 – 96.96)	88.94 (81.69 – 96.18)	91.98 (84.73 – 99.24)	84.43 (78.33 – 90.54)	82.99 (76.20 – 89.79)	86.03 (79.21 – 92.87)	85.48 (79.51 – 91.46)	84.05 (77.36 – 90.74)	87.09 (80.35 – 93.84)	97.94 (90.23 – 105.66)	96.53 (88.22 – 104.84)	99.58 (91.21 – 107.94)	0.09	0.08	0.99
	AT/	93.37	94.61	90.93	87.43	88.67	84.99	88.48	89.73	86.05	100.94	102.21	98.53			
	AA	(87.24 – 99.50)	(88.06 – 101.16)	(84.31 – 97.56)	(81.82 – 93.04)	(82.61 – 94.72)	(78.84 – 91.14)	(82.99 – 93.98)	(83.77 – 95.69)	(79.99 – 92.10)	(93.56 – 108.33)	(94.42 – 109.99)	(90.70 – 106.36)			

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; MBP: mean blood pressure, FTO: fat mass and obesity-associated gene.

Data are expressed as mean (CI 95%).

* Adjusted for DM type, history of HDP, pre-pregnancy BMI, chronic disease (hypertension or hypothyroidism), and housing conditions.

a p value for comparison between the genotypes

b p value for comparison between genotypes in the Traditional Diet group

c p value for comparison between genotypes in the DASH Diet group

Supplementary Table 3 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs17817449 FTO genotype (G allele carriers *vs.* non-carriers) and interaction with diet.

		< 6.5 weeks			6.5 to 19.5 weeks			19.5 to 32.5 weeks			> 32.5 weeks			p^{*a}	p^{*b}	p^{*c}
		Overall		DASH Diet	Overall		Trad Diet	DASH Diet	Overall		Trad Diet	DASH Diet	Overall		Trad Diet	DASH Diet
		SBP	TT	119.55 (112.39- 126.70)	119.40 (111.09- 127.71)	119.76 (111.54- 127.99)	113.77 (107.40- 120.14)	113.62 (105.99- 121.25)	113.98 (106.44- 121.52)	115.52 (109.40- 121.64)	115.38 (107.95- 122.80)	115.74 (108.40- 123.08)	129.58 (120.98- 138.18)	129.46 (119.89- 139.03)	129.82 (120.30- 139.35)	
SBP	GT/	121.08	122.05	119.86	115.30	116.27	114.08	117.05	118.02	115.83	131.12	132.11	129.92			
		GG	(114.30- 127.87)	(114.43- 129.67)	(111.97- 127.74)	(109.35- 121.26)	(109.39- 123.14)	(106.89- 121.26)	(111.33- 122.78)	(111.35- 124.70)	(108.84- 122.83)	(122.73- 139.50)	(123.03- 141.19)	(120.64- 139.20)		
	TT	78.61 (72.69- 84.53)	78.88 (71.96- 85.80)	78.27 (72.00- 84.53)	72.43 (67.16- 77.69)	72.68 (66.31- 79.06)	72.07 (66.42- 77.72)	72.95 (67.80- 78.11)	73.21 (66.93- 79.50)	72.60 (67.05- 78.15)	84.41 (77.49- 91.32)	84.69 (76.89- 92.49)	84.07 (76.85- 91.30)	0.19	0.67	0.92
	DBP	80.65	81.26	79.99	74.47	75.07	73.79	75.00	75.60	74.32	86.45	87.07	85.79			
		GG	(74.83- 86.47)	(74.99- 87.54)	(73.26- 86.71)	(69.32- 79.62)	(69.42- 80.71)	(67.60- 79.98)	(69.94- 80.06)	(70.04- 81.16)	(68.19- 80.45)	(79.56- 93.34)	(79.79- 94.36)	(78.11- 93.48)		
	TT	91.44 (85.03- 97.86)	91.25 (83.66- 98.84)	91.28 (84.47- 98.10)	85.50 (79.56- 91.44)	85.30 (78.11- 92.49)	85.33 (78.96- 91.69)	86.56 (80.75- 92.37)	86.36 (79.26- 93.45)	86.39 (80.13- 92.64)	99.02 (91.44- 106.60)	98.84 (90.24- 107.45)	98.87 (90.93- 106.81)	0.27	0.64	0.99
MBP	GT/	93.41	94.05	92.22	87.47	88.10	86.27	88.52	89.15	87.32	100.99	101.64	99.81			
		GG	(87.09- 99.72)	(87.20- 100.90)	(84.83- 99.60)	(81.63- 93.30)	(81.70- 94.49)	(79.27- 93.26)	(82.79- 94.25)	(82.85- 95.45)	(80.41- 94.24)	(93.42- 108.55)	(93.62- 109.66)	(91.32- 108.30)		

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; MBP: mean blood pressure, FTO: fat mass and obesity-associated gene.

Data are expressed as mean (CI 95%).

* Adjusted for DM type, history of HDP, pre-pregnancy BMI, chronic disease (hypertension or hypothyroidism), and housing conditions.

a p value for comparison between the genotypes

b p value for comparison between genotypes in the Traditional Diet group

c p value for comparison between genotypes in the DASH Diet group

Supplementary Table 4 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs1042713 ADRB2 genotype (A allele carriers *vs.* non-carriers) and interaction with diet.

		< 6.5 weeks			6.5 to 19.5 weeks			19.5 to 32.5 weeks			> 32.5 weeks			p^{*a}	p^{*b}	p^{*c}	
		Overall	Trad Diet	DASH Diet													
SBP	GG	119.36 (111.91- 126.80)	121.57 (112.65- 130.49)	117.21 (108.81- 125.60)	113.56 (106.84- 120.28)	115.81 (107.45- 124.16)	111.45 (103.67- 119.22)	115.31 (108.84- 121.79)	117.59 (109.44- 125.74)	113.23 (105.69- 120.76)	129.40 (120.60- 138.20)	131.71 (121.64- 141.79)	127.35 (117.77- 136.93)	0.50	0.99	0.58	
	AG/	121.02	120.57	122.19	115.22	114.81	116.43	116.97	116.59	118.21	131.06	130.71	132.33				
	AA	(114.31- 127.73)	(113.10- 128.04)	(114.57- 129.80)	(109.34- 121.11)	(108.07- 121.55)	(109.49- 123.36)	(111.36- 122.59)	(110.11- 123.07)	(111.50- 124.92)	(122.80- 139.32)	(121.87- 139.56)	(123.32- 141.34)				
	DBP	GG	80.19 (74.15- 86.23)	80.82 (73.99- 87.66)	79.93 (73.21- 86.65)	74.04 (68.60- 79.47)	74.66 (68.35- 80.97)	73.77 (67.61- 79.93)	74.56 (69.23- 79.88)	75.18 (68.96- 81.40)	74.29 (68.24- 80.34)	85.93 (78.93- 92.94)	86.57 (78.87- 94.28)	85.68 (78.11- 93.25)	0.68	0.99	0.99
	AG/	79.52	80.07	79.09	73.36	73.91	72.93	73.88	74.43	73.45	85.26	85.82	84.84				
	AA	(73.66- 85.37)	(73.67- 86.46)	(72.83- 85.35)	(68.16- 78.57)	(68.13- 79.68)	(67.25- 78.61)	(68.79- 78.97)	(68.76- 80.09)	(67.85- 79.04)	(78.39- 92.13)	(78.51- 92.13)	(77.60- 92.08)				
MBP	GG	92.43 (85.87- 98.99)	93.66 (86.14- 101.19)	91.53 (84.18- 98.87)	86.50 (80.37- 92.62)	87.75 (80.60- 94.90)	85.61 (76.68- 92.55)	87.54 (81.54- 93.54)	88.82 (81.77- 95.86)	86.68 (79.87- 93.49)	99.97 (92.29- 107.66)	101.26 (92.73- 109.78)	99.12 (92.73- 107.45)	0.94	0.99	0.98	
	AG/	92.57	92.77	92.66	86.64	86.86	86.75	87.68	87.93	87.81	100.11	100.37	100.25				
	AA	(86.23- 98.91)	(85.80- 99.75)	(85.82- 99.50)	(80.77- 92.51)	(80.34- 93.39)	(80.32- 93.17)	(81.94- 93.43)	(81.53- 94.33)	(81.49- 94.12)	(92.58- 107.65)	(92.31- 108.42)	(92.28- 108.22)				

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; MBP: mean blood pressure, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

Data are expressed as mean (CI 95%).

* Adjusted for DM type, history of HDP, pre-pregnancy BMI, chronic disease (hypertension or hypothyroidism), and housing conditions.

a p value for comparison between the genotypes

b p value for comparison between genotypes in the Traditional Diet group

c p value for comparison between genotypes in the DASH Diet group

Supplementary Table 5 – Mean trajectory of blood pressure during pregnancy according to rs1042714 ADRB2 genotype (G allele carriers *vs.* non-carriers) and interaction with diet.

		< 6.5 weeks			6.5 to 19.5 weeks			19.5 to 32.5 weeks			> 32.5 weeks			p^{*a}	p^{*b}	p^{*c}	
		Overall	Trad Diet	DASH Diet													
SBP	CC	119.34 (112.55- 126.12)	120.93 (112.93- 128.92)	118.29 (110.77- 125.81)	113.53 (107.54- 119.53)	115.14 (107.81- 122.47)	112.51 (105.71- 119.30)	115.24 (109.48- 121.01)	116.89 (109.75- 124.03)	114.25 (107.70- 120.81)	129.24 (120.87- 137.61)	130.95 (121.56- 140.34)	128.32 (119.41- 137.22)	0.27	0.98	0.61	
	GC/	121.94	122.02	122.90	116.14	116.23	117.11	117.85	117.98	118.86	131.85	132.04	132.92				
	GG	(114.96- 128.92)	(114.18- 129.86)	(114.60- 131.19)	(109.93- 122.35)	(109.10- 123.37)	(109.44- 124.78)	(111.89- 123.81)	(111.09- 124.87)	(111.38- 126.34)	(123.38- 140.31)	(122.92- 141.17)	(123.31- 142.53)				
	DBP	CC	78.96 (73.24- 84.67)	80.19 (73.69- 86.68)	78.32 (72.31- 84.32)	72.78 (67.72- 77.84)	74.01 (68.09- 79.92)	72.14 (66.75- 77.52)	73.27 (68.31- 78.23)	74.52 (68.68- 80.35)	72.65 (67.37- 77.93)	84.61 (77.82- 91.41)	85.91 (78.42- 93.40)	84.04 (77.02- 91.06)	0.15	0.89	0.49
	GC/	81.22	81.82	81.79	75.04	75.44	75.61	75.53	75.95	76.12	86.88	87.34	87.51				
	GG	(75.25- 87.20)	(75.18- 88.06)	(75.05- 88.53)	(69.70- 80.39)	(69.61- 81.27)	(69.40- 81.81)	(70.30- 80.77)	(70.23- 81.66)	(70.99- 82.25)	(79.91- 93.85)	(80.00- 94.69)	(79.82- 95.20)				
MBP	CC	91.66 (85.49- 97.83)	93.17 (86.05- 100.29)	91.01 (84.49- 97.53)	85.71 (80.01- 91.41)	87.23 (80.53- 93.93)	85.07 (79.00- 91.13)	86.73 (81.14- 92.31)	88.27 (81.66- 94.88)	86.11 (80.17- 92.05)	99.10 (91.68- 106.52)	100.70 (92.45- 108.95)	98.54 (92.45- 106.22)	0.17	0.93	0.50	
	GC/	94.07	94.52	94.91	88.13	88.58	88.97	89.14	89.62	90.01	101.51	102.05	102.44				
	GG	(87.58- 100.56)	(87.47- 101.57)	(87.48- 102.34)	(82.09- 94.16)	(81.97- 95.19)	(81.93- 96.02)	(83.22- 95.06)	(83.14- 96.10)	(83.06- 96.97)	(93.87- 109.16)	(93.96- 110.15)	(93.94- 110.94)				

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; MBP: mean blood pressure, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

Data are expressed as mean (CI 95%).

* Adjusted for DM type, history of HDP, pre-pregnancy BMI, chronic disease (hypertension or hypothyroidism), and housing conditions.

a p value for comparison between the genotypes

b p value for comparison between genotypes in the Traditional Diet group

c p value for comparison between genotypes in the DASH Diet group

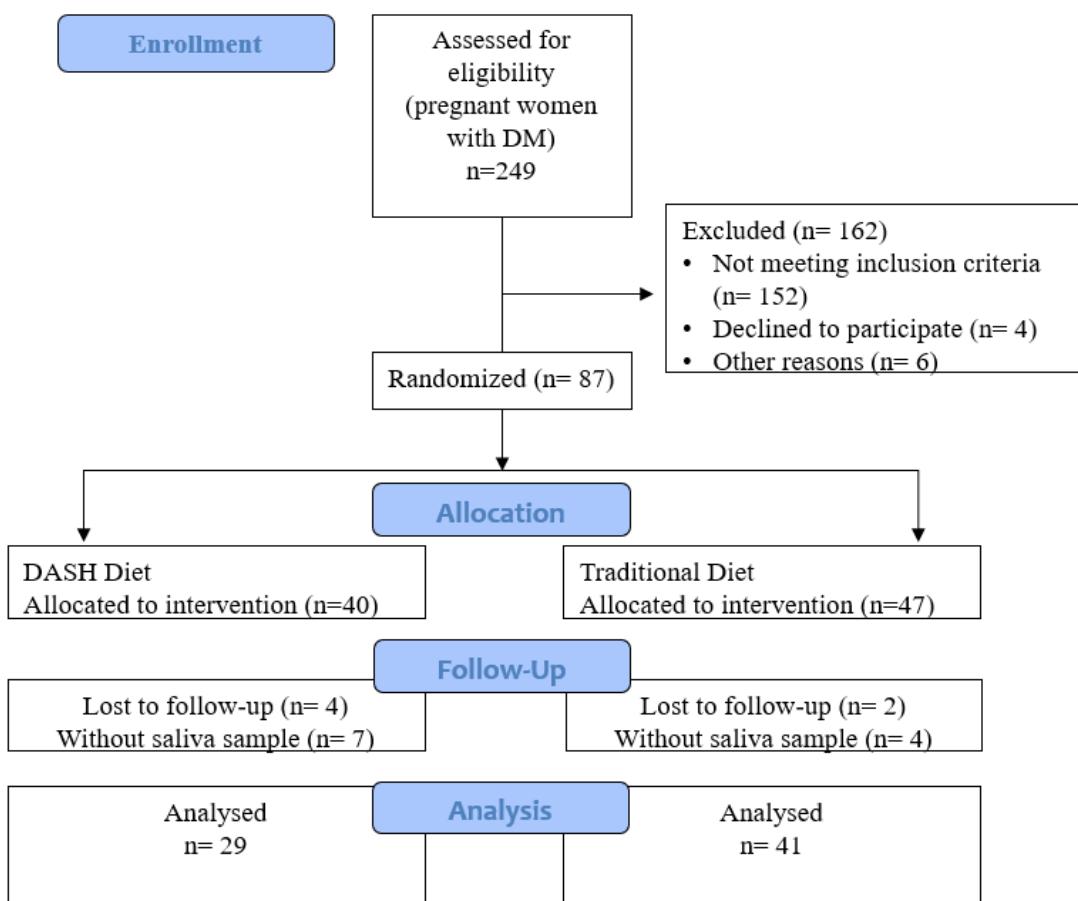


Figure 1 – Flowchart of the study.

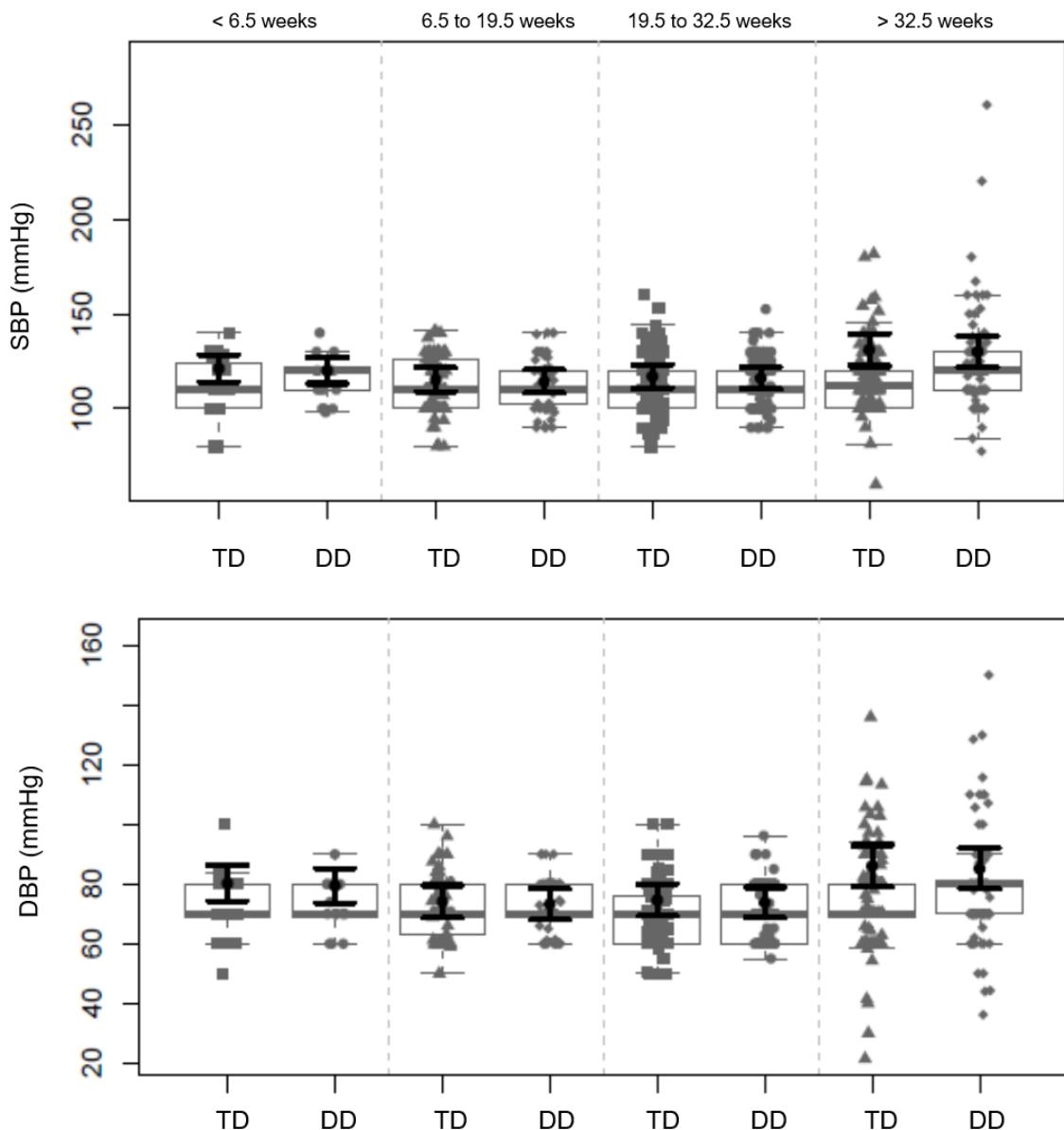


Figure 2 – Trajectory of systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) during pregnancy in the traditional diet (TD) and the DASH diet (DD) groups.

Adjusted for DM type, previous HDP, pre-pregnancy BMI, chronic disease (hypertension or hypothyroidism), and housing conditions.

Manuscrito 3

Pregestational BMI in Brazilian women with diabetes mellitus according to polymorphisms in FTO and ADRB2 genes: a brief communication

Pregestational BMI in Brazilian women with diabetes mellitus according to polymorphisms in FTO and ADRB2 genes: a brief communication

The prevalence of obesity is increasing among Brazilian women in reproductive age, which is harmful for maternal and child health (Brandão et al, 2020). Given the close relationship between obesity and type 2 diabetes mellitus (DM2), the number of pregnancies affected by these both chronic diseases are increasing. Thus, among women with type 1 diabetes mellitus (DM1) there is also a trend in pregestational body mass index (BMI) increase in the last decades (Alessi et al., 2018). Polymorphisms in the fat mass and obesity-related gene (FTO) and adrenoceptor beta 2 gene (ADRB2) have been associated with predisposition to obesity (Loos; Yeo et al., 2014; Zhang et al. 2014). Identifying genetic predisposition to chronic diseases may help to screening individuals in higher risk, who may benefit of a preventive personalized nutrition (Ferguson et al., 2016).

We aimed to investigate the association between common obesity-related polymorphisms in the FTO and ADRB2 genes and the pregestational BMI in a sample of Brazilian women with DM1 and DM2.

This a secondary analysis of a sample of 70 pregnant women who were enrolled in a clinical trial at a public maternity in Rio de Janeiro/Brazil (2016-2020, Brazilian Clinical Trials Registry RBR-4tbgv6). The pregestational BMI was calculated as [pre-pregnancy weight (self-reported) / height² (measured at the beginning of the prenatal care)] and classified in BMI classes: underweight (BMI < 18.5 kg/m²), normal weight (BMI 18.5 - 24.9 kg/m²), overweight (BMI 25.0 - 29.9 kg/m²), or obesity (BMI ≥30.0 kg/m²) (IOM, 2009). Genotyping was performed by real-time PCR, using DNA extracted from buccal cells of a saliva sample. All participants had previous diagnostic of DM1 or DM2 and age ≥ 18 years.

We described the data using median and interquartile range (IQR) for the numeric variables and absolute (n) and relative frequencies (%) for categorical variables. Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis tests were used to compare the pregestational BMI between DM types and genotypes, and Chi-Square/Fisher's exact tests were used to test the association between DM types, genotypes, and BMI classes. The polymorphisms were evaluated in additive, dominant, and recessive models. The power of the analyses was calculated *a posteriori*, considering an effect size of 0.7, alpha error of 0.05 (two tails) and the sample size groups: 34 vs. 36 for tests between DM types or according to the distribution in the dominant models for tests between genotypes (e.g. 28 vs. 42 for rs9939609), resulting in 0.80, 0.79,

0.80, 0.77, and 0.92 for DM types, rs9939609, rs17817449, rs1042713, and rs1042714, respectively (using G Power software, version 3.1.9.7). We considered a p-value < 0.05 as statistically significative. The analyses were performed using the software SPSS version 20.0 (IBM®). Genotypes of all the evaluated polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium, assessed by Chi-Square tests ($p > 0.05$).

The median of age was 32 (IQR 25.75 – 36.00) years, DM1 was 51.43% of the cases, and the participants had the DM diagnostic for 11.50 (IQR 5.75 – 16.75) years in DM1 cases and 4 (IQR 0.85 – 7.50) years in DM2 cases. Twenty women had normal pre-pregnancy BMI (28.58%), 25 (35.71%) had overweight and 25 (35.71%) had obesity. None of the pregnant women had pre-pregnancy underweight. The median of pregestational BMI was 27.85 kg/m² (IQR 24.40 – 32.30), ranging from 19.40 to 39.90 kg/m².

Women had different pregestational BMI according to DM type. The prevalence of obesity was higher among women with DM2 (58.82% vs. 13.88% in DM1) but the prevalence of overweight was similar (38.23% in DM2 vs. 33.33% in DM1), so more women with DM1 were in adequacy of pregestational BMI comparing to women with DM2 (52.77% vs. 2.94%; $p < 0.001$). The median of pregestational BMI was 24.50 kg/m² (IQR 22.85 - 27.95) in women with DM1 and 31.50 kg/m² (IQR 27.77 – 35.85) in women with DM2 ($p < 0.001$).

We found a similar distribution of the genotypes between the types of DM, except for the rs1042714 (GG) in the ADRB2 gene, because all the 4 women of our sample with this genotype had DM1. Women who had CG or CC genotypes for rs1042714 had higher pre-pregnancy BMI than the GG genotype (28.00 kg/m² [24.57 – 32.42] vs. 23.30 kg/m² [20.12 – 26.40]; $p = 0.02$). Although, the statistical significance was lost when we stratified the sample by DM type, and we can't verify the effect on subgroup of women with DM2 because the absence of cases. The other polymorphisms evaluated were not associated with the pregestational BMI, regardless of DM type (**Table 1**).

The A allele of rs9939609 (FTO) have been associated with higher pregestational BMI in Brazilian women (Kroll et al., 2018; Martins et al., 2016), but we didn't find any association between both the evaluated FTO variants and pregestational BMI in our sample of Brazilian women with DM. Previous studies from Italy (Franzago et al., 2017), Mexico (Saucedo et al., 2017), and Finland (Klemetti et al., 2011) also found no association of rs9939609 with pre-pregnancy BMI, although none of them was designed for women with pregestational DM.

All the GG carriers for rs1042714 (ADRB2) in our sample had DM1 and this same genotype was associated with lower BMI, comparing to CG and CC genotypes, contrarious to previous results that associated the G allele with obesity predisposition in adult population from different countries (Zhang et al., 2014). However, we could not investigate this association in women with DM2 because the low sample size.

So, we suggest a deeper investigation regarding the role of the polymorphisms in FTO and ADRB2 genes on the pregestational BMI of Brazilian women, especially with DM, and its interactions with diet or other factors that may probably help to explain the results but were out of the scope of the present analysis.

References

- Alessi J, Wiegand DM, Hirakata VN, et al. Temporal changes in characteristics and outcomes among pregnant women with pre-gestational diabetes. *Int J Gynaecol Obstet.* 2018 Oct;143(1):59-65. doi: 10.1002/ijgo.12590.
- Brandão T, Moraes CF, Ferreira DM, et al. Pregestational excess weight and adverse maternal outcomes: a systematic review of previous studies in Brazil. *Nutr Hosp.* 2020 Apr 16;37(2):384-395. doi: 10.20960/nh.02851.
- Ferguson LR, De Caterina R, Görman U, et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalised Nutrition: Part 1 - Fields of Precision Nutrition. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2016;9(1):12-27. doi: 10.1159/000445350.
- Institute of Medicine. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. Washington: The National Academies Press; 2009.
- Kroll C, de França PHC, Mastroeni MF. Association between FTO gene polymorphism and excess body weight in women from before to after pregnancy: A cohort study. *Am J Hum Biol.* 2018 Sep;30(5):e23164.
- Loos RJ, Yeo GS. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(1):51-61. doi:10.1038/nrendo.2013.227.
- Martins MC, Trujillo J, Farias DR, Struchiner CJ, Kac G. Association of the FTO (rs9939609) and MC4R (rs17782313) gene polymorphisms with maternal body weight during pregnancy. *Nutrition.* 2016 Nov-Dec;32(11-12):1223-30.

Zhang H, Wu J, Yu L. Association of Gln27Glu and Arg16Gly polymorphisms in Beta2-adrenergic receptor gene with obesity susceptibility: a meta-analysis. PLoS One. 2014 Jun 24;9(6):e100489. doi: 10.1371/journal.pone.010048.

Table 1 – FTO and ADRB2 genotype frequencies and comparison of pregestational BMI in pregnant women with pregestational diabetes (Rio de Janeiro/Brazil, 2016-2020).

	Overall (n= 70)			DM1 (n= 36)			DM2 (n= 34)			
	Genotype frequency n (%)	Pregestational BMI (kg/m ²)	p-value*	Genotype frequency n (%)	Pregestational BMI (kg/m ²)	p-value*	Genotype frequency n (%)	Pregestational BMI (kg/m ²)	p-value*	p-value genotypes**
rs9939609 additive model										
TT	28 (40.0)	27.30 (24.35-32.67)		15 (41.7)	24.60 (22.80-27.50)		13 (38.2)	32.00 (27.60-37.55)		
AT	34 (48.6)	27.90 (24.92-32.42)	0.93	17 (47.2)	26.90 (23.20-28.30)	0.62	17 (50.0)	30.00 (27.00-34.95)	0.73	0.94
AA	8 (11.4)	28.75 (24.00-31.92)		4 (11.1)	24.10 (22.70-30.30)		4 (11.8)	30.20 (28.32-35.30)		
rs9939609 dominant model										
TT	28 (40.0)	27.30 (24.35-32.67)		15 (41.7)	24.60 (22.80-27.50)		13 (38.2)	32.00 (27.60-37.55)		
AT/AA	42 (60.0)	27.95 (24.40-32.30)	0.75	21 (58.3)	24.40 (23.20-28.30)	0.45	21 (61.8)	30.00 (27.65-34.95)	0.42	0.77
rs9939609 recessive model										
AA	8 (11.4)	28.75 (24.00-31.92)		4 (11.1)	24.10 (22.70-30.30)		4 (11.8)	30.20 (28.32-35.30)		
AT/TT	62 (88.6)	27.65 (24.47-32.42)	0.94	32 (88.9)	25.15 (22.85-27.95)	0.71	30 (88.2)	31.90 (27.20-35.85)	0.87	1.00
rs17817449 additive model										
TT	32 (45.7)	28.20 (24.70-33.42)		14 (38.9)	25.00 (22.75-27.62)		18 (52.9)	32.00 (28.67-35.95)		
GT	31 (44.3)	27.50 (24.40-30.50)	0.81	18 (50.0)	25.75 (23.30-28.15)	0.61	13 (38.2)	29.60 (27.00-35.05)	0.73	0.54
GG	7 (10.0)	27.90 (23.90-32.30)		4 (11.1)	24.10 (22.70-30.30)		3 (8.8)	29.60 (27.9-)		
rs17817449 dominant model										
TT	32 (45.7)	28.20 (24.70-33.42)		14 (38.9)	25.00 (22.75-27.62)		18 (52.9)	32.00 (28.67-35.95)		
GT/GG	38 (54.3)	27.65 (24.37-30.95)	0.53	22 (61.1)	24.50 (23.30-28.15)	0.44	16 (47.1)	29.60 (27.52-35.52)	0.44	0.24
rs17817449 recessive model										
GG	7 (10.0)	27.90 (23.90-32.30)		4 (11.1)	24.10 (22.70-30.30)		3 (8.8)	29.60 (27.90-)		
GT/TT	63 (90.0)	27.80 (24.50-32.30)	0.75	32 (88.9)	25.15 (22.85-27.95)	0.71	31 (91.2)	31.80 (27.40-35.80)	0.93	1.00
rs1042713 additive model										
GG	25 (35.7)	27.80 (24.30-31.25)		14 (38.9)	25.20 (23.12-27.85)		11 (32.4)	32.00 (29.50-36.40)		
AG	37 (52.8)	27.50 (24.85-32.30)	0.92	18 (50.0)	25.15 (22.80-29.07)	0.90	19 (55.9)	30.80 (26.60-33.80)	0.51	
AA	8 (11.5)	28.45 (24.02-33.97)		4 (11.1)	24.15 (23.07-27.55)		4 (11.8)	33.85 (29.62-36.12)		
rs1042713 dominant model										
GG	25 (35.7)	27.80 (24.30-31.25)		14 (38.9)	25.20 (23.12-27.85)		11 (32.4)	32.00 (29.50-36.40)		
AG/AA	45 (64.3)	27.90 (24.50-32.55)	0.74	22 (61.1)	24.50 (22.80-28.15)	0.72	23 (67.6)	31.20 (27.40-34.10)	0.59	0.57
rs1042713 recessive model										
AA	8 (11.5)	28.45 (24.02-33.97)		4 (11.1)	24.15 (23.07-27.55)		4 (11.8)	33.85 (29.62-36.12)		
AG/GG	62 (88.5)	27.65 (24.47-32.07)	0.75	32 (88.9)	25.15 (22.85-27.95)	0.86	30 (88.2)	31.00 (27.20-35.85)	0.39	1.00

rs1042714 additive model											
CC	35 (50.0)	28.00 (24.60-32.90)		18 (50.0)	25.35 (23.47-28.10)		17 (50.0)	32.00 (28.10-36.20)			0.15
CG	31 (44.3)	27.50 (24.50-32.30)	0.07	14 (38.9)	25.00 (22.75-28.25)	0.23	17 (50.0)	31.20 (27.00-34.80)	0.62		
GG	4 (5.7)	23.30 (20.12-26.40)		4 (11.1)	23.30 (20.12-26.40)		0	-			
rs1042714 dominant model											
CC	35 (50.0)	28.00 (24.60-32.90)		18 (50.0)	25.35 (23.47-28.10)	0.22	17 (50.0)	32.00 (28.10-36.20)	0.62		1.00
CG/GG	35 (50.0)	27.20 (24.30-32.00)	0.41	18 (50.0)	24.30 (22.57-27.27)		17 (50.0)	31.20 (27.00-34.80)			
rs1042714 recessive model											
GG	4 (5.7)	23.30 (20.12-26.40)		4 (11.1)	23.30 (20.12-26.40)	0.12	0	-	-	-	0.11
CG/CC	66 (94.3)	28.00 (24.57-32.42)	0.02	32 (88.9)	25.15 (23.10-28.00)		34 (100.0)	31.50 (27.77-35.85)			

BMI: body mass index, DM1: type 1 diabetes mellitus, DM2: type 2 diabetes mellitus, FTO: fat mass and obesity-associated gene, ADRB2: adrenoceptor beta 2 gene.

Data presented as median (interquartile range) or as absolute and relative frequencies n (%).

* Mann–Whitney U test or Kruskal-Wallis test to compare medians of pregestational BMI between genotypes overall and for DM1 and DM2 groups.

**Chi square test or Fisher exact test to compare frequencies of the genotypes between DM types.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados refutaram nossa hipótese de que o efeito da dieta DASH *versus* dieta tradicional sobre o ganho de peso gestacional, pressão arterial sistêmica e síndromes hipertensivas da gestação em gestantes com diabetes mellitus pré-existente seria diferente, dependendo dos polimorfismos nos genes FTO e ADRB2. Entretanto, nossos resultados de não-associação precisam ser considerados com cautela, devido ao limitado tamanho amostral e poder estatístico do estudo. Em contrapartida, associações significativas de parâmetros genéticos e não-genéticos apresentados podem ser bastante relevantes na assistência pré-natal de gestantes com DM pré-existente.

As mulheres carreadoras do alelo A para os polimorfismos rs9939609 FTO e rs1042713 ADRB2 tiveram maior risco para exceder precocemente o GPG. A avaliação genética para rastreamento de indivíduos em maior predisposição para condições adversas ainda não é uma realidade na saúde pública, muito embora a aplicação clínica da nutrigenética no setor privado esteja em crescimento no Brasil e no mundo. As evidências são limitadas, mas permitem vislumbrar a possibilidade de estratégias nutricionais personalizadas, com resultados otimizados considerando as características genéticas individuais.

A assistência nutricional pré-natal às gestações de alto risco pode ser uma área especialmente beneficiada por este tipo de intervenção, dadas as condições adversas que afetam a saúde materna e infantil em curto, médio e longo prazo. Estratégias nutricionais específicas para atenuar o efeito do risco genético sobre o GPG podem ser desenvolvidas com investigações sobre as interações gene-dieta.

Os parâmetros não-genéticos identificados em relação ao risco de GPG excessivo (tempo de diagnóstico do DM, sobrepeso ou obesidade pré-gestacional e hipotireoidismo) e SHG (cor da pele preta, história prévia de PE, medidas da pressão arterial e HbA1c) são facilmente identificáveis durante o pré-natal e podem ser considerados como alertas para os desfechos, mesmo em locais com disponibilidade de recursos reduzida.

Novas hipóteses surgiram a partir de resultados que não tiveram significância estatística em nossas análises, mas merecem futura investigação por sua relevância clínica: (1) a dieta DASH parece beneficiar mulheres com hipertensão prévia ou gestacional, para redução do risco de PE; (2) os genótipos parecem influenciar a trajetória da pressão arterial, especialmente as mulheres carreadoras do alelo A (rs9939609 FTO) que estavam no grupo DASH tiveram menores valores ao longo da gestação em relação ao grupo controle; (3) as

carreadoras do genótipo GG (rs1042714 ADRB2) tiveram menor IMC pré-gestacional e este genótipo não foi identificado em mulheres com DM2 em nossa amostra.

Além disso, a mesma hipótese mereceria ser testada em uma amostra ampliada, garantindo maior poder estatístico para as conclusões, bem como incluir outros genes e avaliar outros parâmetros relacionados à alimentação ou outros padrões dietéticos. Como perspectivas futuras, temos a continuidade do projeto em 2022 (financiamento contemplado pelo edital FAPERJ Cientista do Nosso Estado 2021), com inclusão de novas gestantes; inclusão da avaliação do gene MC4R e sua relação com GPG, SHG, consumo alimentar e picamalácia; avaliação de índice e carga glicêmica das dietas tradicional e DASH; e avaliação de macro e micronutrientes em interação com os polimorfismos genéticos para desfechos obstétricos e perinatais.

Assim, concluímos o presente estudo reconhecendo suas limitações, mas exaltando o pioneirismo na inserção da nutrigenética em pesquisas clínicas envolvendo gestantes de alto risco em uma maternidade pública brasileira.

REFERÊNCIAS

- AIDAR, M.; LINE, S.R.P. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. **Braz Dent J**, v. 18, n. 2, p. 148-152, 2007.
- AL-OGAIDI, S.O.; ABDULSATTAR, S.; AL-DULAIMI, M. FTO rs17817449 Gene Polymorphism as a Predictor for Maternal Obesity in Iraqi Pregnant Women. **Indian J Public Health Res Dev**, v. 10, n. 4, p. 678-683, 2019.
- ALABDULJABBAR, S. et al. Personalized Nutrition Approach in Pregnancy and Early Life to Tackle Childhood and Adult Non-Communicable Diseases. **Life (Basel)**, v. 11, n. 6, p. 1-21, 2021.
- ALESSI, J. et al. Temporal changes in characteristics and outcomes among pregnant women with pre-gestational diabetes. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 143, n. 1, p. 59-65, 2018.
- ALLEN, R. et al. Effect of diet- and lifestyle-based metabolic risk-modifying interventions on preeclampsia: a meta-analysis. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 93, n. 10, p. 973-85, 2014.
- AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS (ACOG). American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. **Obstet Gynecol**, v. 135, n. 6, p. e237-e260, 2020.
- AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS (ACOG). ACOG Committee Opinion. n. 743. Low-Dose Aspirin Use During Pregnancy. **Obstet. Gynecol**, v. 132, n. 1, p. e44–e52, 2018.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes – 2021. **Diabetes Care**, v. 44, supl. 1, p. S1-S232, 2021.
- ANDRAWEERA, P.H. et al. The obesity associated FTO gene variant and the risk of adverse pregnancy outcomes: Evidence from the SCOPE study. **Obesity (Silver Spring)**, v. 24, n. 12, p. 2600-2607, 2016.
- ARVIZU, M. et al. Adherence to Pre-pregnancy DASH Dietary Pattern and Diet Recommendations from the American Heart Association and the Risk of Preeclampsia. **Curr Dev Nutr**, v. 3, supl. 1, pii: nzz048, 2019.
- ASEMI, Z. et al. Favourable effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension diet on glucose tolerance and lipid profiles in gestational diabetes: a randomised clinical trial. **Br J Nutr**, v. 109, n. 11, p. 2024–2030, 2013a.
- ASEMI, Z. et al. A randomized controlled clinical trial investigating the effect of DASH diet on insulin resistance, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes. **Nutrition**, v. 29, n. 4, p. 619–624, 2013b.

ASEMI, Z. et al. Effects of DASH diet on lipid profiles and biomarkers of oxidative stress in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome: A randomized clinical trial. **Eur J Clin Nutr**, v. 30, n. 11–12, p. 1287–1293, 2014.

AUNE, B. et al. Evidence of dysfunctional beta2-adrenoceptor signal system in pre-eclampsia. **BJOG**, v. 107, n. 1, p. 116–121, 2000.

BEYSEL, S. et al. Maternal genetic contribution to pre-pregnancy obesity, gestational weight gain, and gestational diabetes mellitus. **Diabetol Metab Syndr**, v. 11, p. 37, 2019

BORGHI, C. et al. Nutraceuticals and blood pressure control: a European Society of Hypertension position document. **J Hypertens**, v. 38, n. 5, p. 799–812, 2020.

BRANDÃO, T. et al. Gestational weight gain adequacy for favourable obstetric and neonatal outcomes: A nationwide hospital-based cohort gestational weight gain for favourable obstetric and neonatal outcomes. **Clin Nutr ESPEN**, v. 45, p. 374–380, 2021.

BRANDÃO, T. et al. Pregestational excess weight and adverse maternal outcomes: a systematic review of previous studies in Brazil. **Nutr Hosp**, v. 37, n. 2, p. 384–395, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Banco de dados do Sistema Único de Saúde – DATASUS**. Disponível em: <<https://datasus.saude.gov.br/>>. Acesso em: 02 Jan 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução n° 466**, de 12 de dezembro de 2012. Trata sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília: Ministério da Saúde, 2012b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução n° 510**, de 7 de abril de 2016. Trata sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa em ciências humanas e sociais. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Gestação de alto risco**: manual técnico. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Atenção ao pré-natal de baixo risco**. Caderno de Atenção Básica 32. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

CAMP, K.M., TRUJILLO, E. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: nutritional genomics. **J Acad Nutr Diet**, v. 114, n. 2, p. 299–312, 2014.

CAO, Y. et al. Adherence to a Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-style Diet in Relation to Preeclampsia: A Case-Control Study. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 9078, 2020.

CARRILHO, T.R.B. et al. Agreement between self-reported pre-pregnancy weight and measured first-trimester weight in Brazilian women. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 20, n. 1, p. 734, 2020.

COMINETTI, C. et al. Brazilian Society for Food and Nutrition position statement: nutrigenetic tests. **Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr**, v. 42, p. 1-11, 2017.

CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS (CFN). **Resolução CFN nº 646**, de 18 de março de 2020. Disponível em: <https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/resolucoes/Res_646_2020.html>. Acesso em: 02 Jan 2022.

CORELLA, D.; ORDOVÁS, J.M. Papel de las ómicas en la nutrición de precisión: fortalezas y debilidades. **Nutr Hosp**, v. 35, n. 4, p. 10-18, 2018.

COURTNEY, A.U. et al. DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) dietary pattern and maternal blood pressure in pregnancy. **J Hum Nutr Diet**, v. 33, n. 5, p. 686-697, 2020.

DELLA LÍBERA, B. et al. Adherence of pregnant women to dietary counseling and adequacy of total gestational weight gain. **Nutr Hosp**, v. 26, n. 1, p. 79-85, 2011.

DOHERTY, A. et al. Hemodynamic Complications in Pregnancy: Preeclampsia and Beyond. **Clin Perinatol**, v. 47, n. 3, p. 653-670, 2020.

EGAN, A.M. et al. ATLANTIC-DIP: excessive gestational weight gain and pregnancy outcomes in women with gestational or pregestational diabetes mellitus. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 1, p. 212-219, 2014.

EISENACH, J.H.; WITWER, E.D. Beta-Adrenoceptor gene variation and intermediate physiological traits: prediction of distant phenotype. **Exp Physiol**, v. 95, n. 7, p. 757-764, 2010.

EISENACH, J.H. et al. Interactions between beta-2 adrenoceptor gene variation, cardiovascular control and dietary sodium in healthy young adults. **J Physiol**, v. 592, n. 23, p. 5221-5233, 2014.

EVERS, I.M. et al. Macrosomia despite good glycaemic control in Type I diabetic pregnancy; results of a nationwide study in The Netherlands. **Diabetologia**, v. 45, n. 11, p. 1484–1489, 2002.

FAN, L.M. et al. Study on single nucleotide polymorphism of beta2 adrenoceptor gene in patients with pregnancy induced hypertension of northern China]. **Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi**, v. 40, n. 2, p. 103-105, 2005.

FERGUSON, L.R. et al. Guide and Position of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics on Personalised Nutrition: Part 1 - Fields of Precision Nutrition. **J Nutrigenet Nutrigenomics**, v. 9, n. 1, p. 12-27, 2016.

FONSECA, A.C.P.D. et al. Genetic variants in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene confer risk for extreme obesity and modulate adiposity in a Brazilian population. **Genet Mol Biol**, v. 43, n. 1, p. e20180264, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO); World Health Organization (WHO); United Nations University (UNU). **Human energy requirements**. Report of a Joint

FAO/WHO/UNU Expert Consultation. 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ay5686e.pdf>>. Acesso em: 02 Jan 2022.

FRANZAGO, M. et al. Molecular Analysis of a Genetic Variants Panel Related to Nutrients and Metabolism: Association with Susceptibility to Gestational Diabetes and Cardiometabolic Risk in Affected Women. **J Diabetes Res**, v. 2017, p. 4612623, 2017.

FULAY, A.P. et al. Associations of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet with pregnancy complications in Project Viva. **Eur J Clin Nutr**, v. 72, n. 10, p. 1385-1395, 2018.

GARCÍA-SOLÍS P. et al. Fat mass obesity-associated (FTO) (rs9939609) and melanocortin 4 receptor (MC4R) (rs17782313) SNP are positively associated with obesity and blood pressure in Mexican school-aged children. **Br J Nutr**, v. 10, p. 1-7, 2016.

GESTEIRO, E. et al. Maternal and neonatal FTO rs9939609 polymorphism affect insulin sensitivity markers and lipoprotein profile at birth in appropriate-for-gestational-age term neonates. **J Physiol Biochem**, v. 72, n. 2, p. 169-181, 2016.

GJESING, AP. et al. Studies of the associations between functional beta2-adrenergic receptor variants and obesity, hypertension and type 2 diabetes in 7,808 white subjects. **Diabetologia**, v. 50, n. 3, p. 563-568, 2007.

GJESING, A.P. et al. No consistent effect of ADRB2 haplotypes on obesity, hypertension and quantitative traits of body fatness and blood pressure among 6,514 adult Danes. **PLoS One**, v. 4, n. 9, e7206, 2009.

GOLDSTEIN, R.F. et al. Association of gestational weight gain with maternal and infant outcomes: a systematic review and meta-analysis. **J Am Med Assoc**, v. 317, n. 21, p. 2207-2225, 2017.

GROTH, S.W. et al. Obesity candidate genes, gestational weight gain, and body weight changes in pregnant women. **Nutrition**, v. 48, p. 61-66, 2018.

GROTH SW, MORRISON-BEEDY D. GNB3 and FTO Polymorphisms and Pregnancy Weight Gain in Black Women. **Biol Res Nurs**, v. 17, n. 4, p. 405-412, 2015.

GUALDANI, E. et al. Pregnancy outcomes and maternal characteristics in women with pregestational and gestational diabetes: a retrospective study on 206,917 singleton live births. **Acta Diabetol**, v. 58, n. 9, p. 1169-1176, 2021.

HAJIANFAR, H. et al. The Association Between Major Dietary Patterns and Pregnancy-related Complications. **Arch Iran Med**, v. 21, n. 10, p. 443-451, 2018.

HARSHA, D.W. et al. Dietary Approaches to Stop Hypertension: a summary of study results. DASH Collaborative Research Group. **J Am Diet Assoc**, v. 99, supl. 8, p. S35-39, 1999.

HOFMEYR, G. J. et al. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 10, n. 10, CD001059, 2018.

HOSSEINI-ESFAHANI, F. et al. The interaction of fat mass and obesity associated gene polymorphisms and dietary fiber intake in relation to obesity phenotypes. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, 18057, 2017a.

HOSSEINI-ESFAHANI, F. et al. Mediterranean Dietary Pattern Adherence Modify the Association between FTO Genetic Variations and Obesity Phenotypes. **Nutrients**, v. 9, n. 10, 1064, 2017b.

HOSSEINI-ESFAHANI, F. et al. Dietary patterns modify the association between fat mass and obesity-associated genetic variants and changes in obesity phenotypes. **Br J Nutr**, v. 121, n. 11, p. 1247-1254, 2019.

IKEM, E. et al. Dietary patterns and the risk of pregnancy-associated hypertension in the Danish National Birth Cohort: a prospective longitudinal study. **BJOG**, v. 126, n. 5, p. 663-673, 2019.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Implementing guidelines on weight gain and pregnancy**. Washington: The National Academies Press, 2013.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Nutrition During Pregnancy and Lactation: Exploring New Evidence**. Washington: The National Academies Press, 2020.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **Weight gain during pregnancy: Reexamining the guidelines**. Washington: The National Academies Press, 2009.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **IDF Diabetes Atlas 9th edition - 2019**. Disponível em: <<https://diabetesatlas.org/atlas/ninth-edition/>>. Acesso em: 02 Jan 2022.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **IDF Diabetes Atlas 10th edition - 2021**. Disponível em: <<https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>>. Acesso em: 02 Jan 2022.

INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 860-921, 2001.

JIANG, F. et al. The efficacy of the Dietary Approaches to Stop Hypertension diet with respect to improving pregnancy outcomes in women with hypertensive disorders. **J Hum Nutr Diet**, v. 32, n. 6, p. 713-718, 2019.

KAC, G. et al. Gestational weight gain charts: results from the Brazilian Maternal and Child Nutrition Consortium. **Am J Clin Nutr**, v. 113, n. 5, p. 1351-1360, 2021.

KLEMETTI, M. et al. An obesity-related FTO variant and the risk of preeclampsia in a Finnish study population. **J Pregnancy**, v. 2011, p. 251470, 2011.

KROLL, C. et al. Association of ADIPOQ-rs2241766 and FTO-rs9939609 genetic variants with body mass index trajectory in women of reproductive age over 6 years of follow-up: the PREDI study. **Eur J Clin Nutr**, 2021 (online).

- KROLL, C. et al. Association between FTO gene polymorphism and excess body weight in women from before to after pregnancy: A cohort study. **Am J Hum Biol**, v. 30, n. 5, p. e23164, 2018.
- LAWLOR, D. et al. Maternal and offspring adiposity-related genetic variants and gestational weight gain. **Am. J. Clin. Nutr**, v. 94, p. 149–155, 2011.
- LOOS, R.J.; YEO, G.S. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. **Nat Rev Endocrinol**, v. 10, n. 1, p. 51-61, 2014.
- de LUIS, D.A. et al. Effects of a High-Protein/Low-Carbohydrate Diet versus a Standard Hypocaloric Diet on Weight and Cardiovascular Risk Factors: Role of a Genetic Variation in the rs9939609 FTO Gene Variant. **J Nutrigenet Nutrigenomics**, v. 8, n. 3, p. 128-136, 2015.
- LUND, A. et al. Pre-gestational diabetes: Maternal body mass index and gestational weight gain are associated with augmented umbilical venous flow, fetal liver perfusion, and thus birthweight. **PLoS One**, v. 16, n. 8, e0256171, 2021.
- MAGEE, L.A. et al. The Hypertensive Disorders of Pregnancy: The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy Classification, Diagnosis & Management Recommendations for International Practice. **Pregnancy Hypertens**, 2021 (online).
- MARCADENTI, A. et al. Effects of FTO RS9939906 and MC4R RS17782313 on obesity, type 2 diabetes mellitus and blood pressure in patients with hypertension. **Cardiovasc Diabetol**, v. 12, p. 103, 2013.
- MARTINS, M.C. et al. Association of the FTO (rs9939609) and MC4R (rs17782313) gene polymorphisms with maternal body weight during pregnancy. **Nutrition**, v. 32, n. 11-12, p. 1223-1230, 2016.
- MATE, A. et al. Lifestyle, maternal nutrition and healthy pregnancy. **Curr Vasc Pharmacol**, v. 19, n. 2, p. 132-140, 2021.
- MATERNIDADE ESCOLA DA UFRJ. Protocolos assistenciais. **Pré-eclâmpsia e eclâmpsia** (atualizado em 10/08/2020). Disponível em: <http://www.me.ufrj.br/images/pdfs/protocolos/obstetricia/capitulo_68_pre_eclampsia_eclampsia_new.pdf>. Acesso em: 02 Jan 2022.
- MATSUDO, S. et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reproduzibilidade no Brasil. **RBAFS**, v. 6, n. 2, p. 5–18, 2001.
- MCDOWELL, M.; CAIN, M.A.; BRUMLEY J. Excessive Gestational Weight Gain. **J Midwifery Womens Health**, v. 64, n. 1, p. 46-54, 2019.
- METZGER, B.E. et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. **Diabetes Care**, v. 33, n. 3, p. 676-682, 2010.

MUÑOZ, A.M. et al. Examining for an association between candidate gene polymorphisms in the metabolic syndrome components on excess weight and adiposity measures in youth: a cross-sectional study. **Genes Nutr**, v. 12, n. 19, 2017.

MURRAY HORWITZ, M.E. et al. Pregnancy-Related Weight Gain and the Obesity Epidemic-a Missed Opportunity: Systematic Review of Clinical Practice Recommendations. **J Gen Intern Med**, 2021 (online).

MONTENEGRO, C.A.B. et al. Toxemia gravídia, Pré-eclâmpsia, Eclâmpsia. In: **Rezende Obstetrícia**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p.277 – 293.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO (NEPA). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** (TACO/NEPA-Unicamp). 4 ed. 2011. Disponível em: <<https://www.nepa.unicamp.br/taco/tabela.php?ativo=tabela>>. Acesso em: 02 Jan 2022.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS); MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS); FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (FEBRASGO); SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). **Rastreamento e diagnóstico de diabetes mellitus gestacional no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

PAUSOVA, Z. et al. A common variant of the FTO gene is associated with not only increased adiposity but also elevated blood pressure in French Canadians. **Circ Cardiovasc Genet**, v. 2, n. 3, p. 260-269, 2009.

PHAN, L. et al. **ALFA**: Allele Frequency Aggregator. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 10 Mar. 2020, www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/docs/gsr/alfa/. Disponível em: <[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp)>. Acesso em: 02 Jan 2022.

PHILLIPS, K.M. et al. Validation of diet composition for the Dietary Approaches to Stop Hypertension trial. DASH Collaborative Research Group. **J Am Diet Assoc**, v. 99, n. 8, p. S60–S68, 1999.

RAGHAVAN, R. et al. Dietary patterns before and during pregnancy and maternal outcomes: a systematic review. **Am J Clin Nutr**, v. 109, supl. 7, p. 705S-728S, 2019.

REYNOLDS, A.N. et al. Dietary fibre and whole grains in diabetes management: Systematic review and meta-analyses. **PLoS Med**, v. 17, n. 3, e1003053, 2020.

SACKS, F.M. et al. Rationale and design of the Dietary Approaches to Stop Hypertension trial (DASH). A multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. **Ann Epidemiol**, v. 5, n. 2, p. 108-118, 1995.

SALDAÑA-ALVAREZ, Y. et al. Gender-Dependent Association of FTO Polymorphisms with Body Mass Index in Mexicans. **PLoS One**, v. 11, n. 1, e0145984, 2016.

SAUCEDO, R. et al. Gene variants in the FTO gene are associated with adiponectin and TNF-alpha levels in gestational diabetes mellitus. **Diabetol Metab Syndr**, v. 9, p. 32, 2017.

SAUNDERS, C. et al. Procedimentos metodológicos para elaboração de plano alimentar adaptado baseado na dieta DASH para gestantes com diabetes mellitus. **BJD**, v. 7, n. 12, p. 116769-116788, 2021.

SAUNDERS, C. et al. Recomendações Nutricionais na Gestação. In: Accioly E, Saunders C, Lacerda EMA (Org). **Nutrição em Obstetrícia e Pediatria**. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica/Guanabara Koogan, 2012. p. 127–150.

SIEGA-RIZ, A.M.; GRAY, G.L. Gestational weight gain recommendations in the context of the obesity epidemic. **Nutr Rev**, v. 71, supl. 1(0 1):S26-30, 2013.

SIEGEL, A.M. et al. Evaluating gestational weight gain recommendations in pregestational diabetes. **Am J Obstet Gynecol**, v. 213, n. 4, p. 563.e1-5, 2015.
da SILVA, LBG. et al. Food intake of women with gestational diabetes mellitus, in accordance with two methods of dietary guidance: a randomised controlled clinical trial. **Br J Nutr**, v. 121, n. 1, p. 82–92, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). **Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020**. São Paulo: Clannad, 2019.

SONESTEDT, E. et al. Fat and carbohydrate intake modify the association between genetic variation in the FTO genotype and obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 90, n. 5, p. 1418-1425, 2009.
STRILCHUK, L. et al. Dietary interventions in blood pressure lowering: current evidence in 2020. **Kardiol Pol**, v. 78, n. 7-8, p. 659-666, 2020.

SUN, B. et al. Adrenergic receptor genotype affects the renin-angiotensin- aldosterone system response to the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) dietary pattern. **Am J Clin Nutr**, v. 92, n. 6, p. 444–449, 2010.

SVETKEY, L. P. et al. Modulation of the BP Response to Diet by Genes in the Renin–Angiotensin System and the Adrenergic Nervous System. **Am Journal Hypertens**, v. 24, n. 2, p. 209–217, 2011.

UMESAWA, M.; KOBASHI, G. Epidemiology of hypertensive disorders in pregnancy: prevalence, risk factors, predictors and prognosis. **Hypertens Res**, v. 40, n. 3, p. 213-220, 2017.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **USDA National Nutrient Database for Standard Reference**. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/>>. Acesso em: 02 Jan 2022.

VAN HORN, L. et al. Dietary Approaches to Stop Hypertension Diet and Activity to Limit Gestational Weight: Maternal Offspring Metabolics Family Intervention Trial, a Technology Enhanced Randomized Trial. **Am J Prev Med**, v. 55, n. 5, p. 603-614, 2018.

VENTER , J.C. et al. The sequence of the human genome. **Science**, v. 291, n. 5507, p. 1304-1351, 2001.

- VERDONK, K. et al. The renin-angiotensin-aldosterone system in pre-eclampsia: the delicate balance between good and bad. **Clin Sci (Lond)**, v. 126, n. 8, p. 537–544, 2014.
- VESTGAARD, M. et al. Prediction of preeclampsia in type 1 diabetes in early pregnancy by clinical predictors: a systematic review. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 31, n. 14, p. 1933-1939, 2018.
- WEHBY, G.L.; SCHOLDER, S.V. Genetic instrumental variable studies of effects of prenatal risk factors. **Biodemography Soc Biol**, v. 59, n. 1, p. 4-36, 2013.
- WEISSGERBER, T.L.; MUDD, L.M. Preeclampsia and diabetes. **Curr Diab Rep**, v. 15, n. 3, p. 9, 2015.
- WINDHAUSER, M.M. et al. Translating the Dietary Approaches to Stop Hypertension diet from research to practice: dietary and behavior change techniques. DASH Collaborative Research Group. **J Am Diet Assoc**, v. 99, suppl. 8, p. S90-95, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy**. Geneva: World Health Organization, 2013.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO recommendation regarding salt restriction for the prevention of pre-eclampsia**. Geneva: World Health Organization, 2011
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience**. Geneva: World Health Organization, 2016.
- XI, B. et al. The common SNP (rs9939609) in the FTO gene modifies the association between obesity and high blood pressure in Chinese children. **Mol Biol Rep**, v. 40, n. 2, p. 773-778, 2013.
- ZHANG, H.; WU, J.; YU, L. Association of Gln27Glu and Arg16Gly polymorphisms in Beta2-adrenergic receptor gene with obesity susceptibility: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 9, n. 6, e100489, 2014.
- ZOTOVA, T.Y. et al. Distribution of Polymorphisms of the Renin-Angiotensin System Genes (ACE, AGT, and AGTR1), ITGB3, and FTO in Pregnant Patients with Hypertensive Disorders. **Bull Exp Biol Med**, v. 167, n. 1, p. 74-78, 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A – PROTOCOLO DE PESQUISA



Instrumento de Coleta de Dados – Ensaio Clínico

<i>Projeto:</i> Efeito da Dieta DASH no Resultado Perinatal de Gestantes com Diabetes Mellitus (DASDIA)		
Nome: _____		
Prontuário: _____ GPSMI: _____ Tipo DM: (1) Tipo I (2) Tipo II		
Grupo de Estudo: (1) G1 controle (prontuário ímpar) (2) G2- intervenção (prontuário par)		
Pesquisador: _____	Data de ingresso :	_____ / _____ / _____
DPP: _____ / _____ / _____		

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

- Adultas (idade \geq 18anos)
- Gestação de feto único
- Sem complicações do DM ou comorbidades
- Idade gestacional \leq 28 semanas

Atenção: PREENCHER O TCLE ANTES DA ENTREVISTA E, ENTREGAR UMA VIA PARA A GESTANTE.



Registro GPSMI: _____	Pesquisador: _____
Nome: _____	
1º. CONSULTA	
Data: ____ / ____ / ____	
CONSULTA AOS PRONTUÁRIOS E/OU ENTREVISTA	
Dados de identificação e sociodemográficos	
Endereço: _____	
Bairro: _____	Cidade: _____
Telefone fixo: (____) _____	Celular: (____) _____
Autoriza contato via WhatsApp (1) Sim. Outro número: (____) _____	
(2) Não	
Autoriza contato via Facebook (1) Sim. Nome da conta: _____ (2) Não	
E-mail: _____	
Data de Nascimento: ____ / ____ / ____	Idade: ____ anos
Naturalidade: _____	
Situação marital: (1) vive sem companheiro (2) vive com companheiro	
Instrução: (1) Sabe ler e escrever (2) Ensino fundamental incompleto (3) Ensino fundamental completo (4) Ensino médio incompleto (5) Ensino médio completo (6) Superior	
Anos completos de instrução: _____ anos	
Dados de identificação, sociodemográficos e hábitos sociais	
Qual é a sua ocupação ou atividade profissional? (1) dona de casa (2) estudante	
(3) outras _____	
Você pratica alguma atividade física? (1) Sim. Qual/freqüência/tempo _____	
(2) Não	
Qual a cor da sua pele? (1) Branca (2) Preta (3) Parda (4) Amarela (origem oriental) (5) Indígena	
Você usou ou está usando nesta gestação:	
(1) Bebida alcoólica (2) Cigarro (3) Drogas (4) Nenhuma	
No caso do uso de alguma substância acima, descrever freqüência e quantidade _____	
Avaliação clínica e obstétrica	
Idade gestacional da primeira consulta do pré-natal: _____ sem. (considerar consulta de triagem)	
DUM: ____ / ____ / ____ Gestação: ____ Para: ____ Abortos (nº/tipo): _____	
Data do término da última gestação: ____ / ____ / ____ Aborto na gestação anterior? (1) Sim (2) Não	
História pessoal: (1)BPN (<2,5 kg) (2) pré-termo (IG <37 semanas) (3) macrossomia (4) óbito fetal/natimorto (5) neomorto (6) malformação congênita (7) polidrâmnio (8) intervalo entre as gestações superior a 10 anos	
(9) outros _____	
História de intercorrências gestacionais ou no parto ou puerpério, informar a IG:	

História familiar: (1) DM (quem? _____)	(2) SHG (quem? _____)
Tempo de Diagnóstico do DM: _____	
Insulinas em uso: (1)NPH (2) Regular (3)outras _____	
Dose de insulina e horários: _____	
Uso de AAS (1) Sim, dose e inicio _____ (2) Não	
Risco de PE: (1) Baixo risco (2) Alto risco	
Tipo de dieta (MT ou MCC) adotada e adesão: _____	
Caso de hipoglicemia (<60mg/dl) e/ou hiperglicemia (glicemia de jejum >95mg/dl ou 1h após a refeição >140mg/dl) ver no mapa de auto-monitorização: _____	
Controle glicêmico: (1) Bom controle (GJ <95mg/dl ou 1h após a refeição <140mg/dl ou 2h <120mg/dl)(2) Descontrole (GJ >95mg/dl ou 1h após a refeição >140mg/dl ou 2h >120mg/dl)	
Estatura: _____ m	Peso pré-gestacional: _____ kg
Peso na 1ª consulta ou na triagem: _____ kg (IG s _____ / _____ (DUM/US)).	
IMC pré-gestacional: _____	Clas:(1)Bp (2)N (3) Sp (4) Ob
IMC gestacional inicial: _____	Clas:(1) Bp (2)A (3) Sp (4) Ob

AVALIAÇÃO DIETÉTICA NA 1ª CONSULTA – ANAMNESE DETALHADA (FOLHA DO SND).

AVALIAÇÃO EM TODAS AS CONSULTAS

Registrar todas as informações disponíveis no prontuário

- IG – idade gestacional em semanas/dias;
- SIM (S), NAO (N);
- Edema - assinalar 0, 1+, 2+, 3+
- Identificar as intercorrências gestacionais e sintomatologia digestiva, a partir dos registros médicos, do nutricionista e por meio da interpretação dos exames:
 - Anemia - hemoglobina <11g/dL. Nos casos de anemia descrever valores de VCM.
 - Hipertensão gestacional - pressão arterial ≥140 x 90mmHg após a 20ª semana.
 - Pré-eclâmpsia: hipertensão associada com proteinúria (>300mg em urina de 24h).
 - Eclâmpsia: hipertensão associada com proteinúria e convulsões.
 - Atenção para infecções urinárias, doenças sexualmente transmissíveis, ruptura prematura de membrana e outros.
- REGISTRAR INFORMAÇÕES DE TODAS AS CONSULTAS DE PN E MARCAR AS CONSULTAS COM O NUTRICIONISTA
- ATENÇÃO: Em casos de picamalácia e XN, preencher o anexo3 e grampear junto ao protocolo da gestante.

QUADROS DE EVOLUÇÃO ANTROPOMÉTRICA E CLÍNICA:

- **Informações para cálculo do VET:**

Peso Pré-gestacional: _____ kg IMC Pré-gestacional: _____ kg/m²
Idade: _____ anos IMC PG: (1)BP (2)N (3)SP (4)O NAF: _____

*Marcar com um asterisco as consultas com o nutricionista. ** Investigar em todas as consultas

Para investigação da picamalácia:

Tem vontade de comer substâncias não alimentares ou combinações estranhas durante a gestação?

(1) Sim. Qual substância ou combinação atípica. IG que começou?

(2) Não

Para investigação da cegueira noturna:

A. Dificuldade para enxergar durante o dia? (1) Sim (2) Não

B. Dificuldade para enxergar com pouca luz ou à noite?

(1) Sim. Quando começou/terminou?

(2) Ni₃O

C. Tem cegueira noturna? (1) Sim. Quando começou - IG?

Considerar a capacidade de visão com o uso de lentes de contato ou óculos.

Diagnóstico de XN:

(1) SIM: Resposta da pergunta A for NÃO e a da B e/ou C for SIM (2) Não

Em caso de picamação ou XX preencher o anexo 3

QUADRO DE EVOLUÇÃO CLÍNICA E USO DE MEDICAMENTOS

Entrevista e consulta aos prontuários em todas as consultas

2ª CONSULTA	Data: _____ / _____ / _____
Pesquisador:	Registro GPSMI:
Nome: _____	
Grupo de Estudo: (1) G1- controle (2) G2- intervenção	IG: _____ semanas

ENTREVISTA E CONSULTA AOS PRONTUARIOS

Evolução clínica e nutricional

Evolução clínica do diabetes (descrever alteração no tratamento, internação, descrever episódios de hiper-JD \geq 95 e pós \geq 140 e hipoglicemia $<$ 60): _____

Intercorrências e IG: _____

Aceitação ou alteração da dieta prescrita: _____

Insulinas em uso: (1)NPH (2) Regular (3)outras _____
 Dose de insulina e horários: _____

ENTREVISTA Dados de identificação, sociodemográficos e hábitos sociais

Alteração de endereço ou telefone: _____
 Nº de pessoas da família: _____ RFPC: R\$ _____ SM _____
 Renda familiar total: _____
 Saneamento do domicílio: (1) Adequada (coleta de lixo regular, água encanada, rede de esgoto)
 (2)Inadequada (descrever serviço ausente) _____
 Gestação atual foi planejada? (1) Sim (2) Não _____
 Gestação atual é aceita? (1) Sim (2) Não. Pq? _____
 Você está usando nesta gestação: (1) Bebida alcoólica (2) Cigarro (3) Drogas (4) Nenhuma
 No caso do uso de alguma substância acima, descrever freqüência e quantidade _____

AVALIAÇÃO DA ADESÃO-Assinalar os itens observados.

(1) quantidade (2) qualidade (3) padrão de refeições (4) adequação do ganho de peso semanal
 Considerar - 4) adequação do ganho de peso semanal até +/-20% do programado na consulta anterior

Quais refeições realiza por dia?
 Desjejum Colação Almoço Merenda Jantar Ceia

ATENÇÃO: Preencher os quadros de evolução antropométrica, clínica e dos exames

3^a. CONSULTA	Data: _____ / _____ / _____
Pesquisador:	Registro GPSMI: _____
Nome: _____	
Grupo de Estudo: (1) G1- controle (2) G2- intervenção	IG: _____ semanas

ENTREVISTA E CONSULTA AOS PRONTUÁRIOS
Evolução clínica e nutricional

Evolução clínica do diabetes (descrever alteração no tratamento, internação, descrever episódios de hiper- $\text{HbA}_1\text{c} \geq 95$ e pós $\geq 140/\text{IG}$ e hipoglicemia- <60):

Intercorrências e IG: _____

Aceitação ou alteração da dieta prescrita: _____

Insulinas em uso: (1) NPH (2) Regular (3) outras _____
Dose de insulina e horários: _____

ENTREVISTA
Dados de identificação, sociodemográficos e hábitos sociais

Alteração de endereço ou telefone: _____

Você está usando nesta gestação: (1) Bebida alcoólica (2) Cigarro (3) Drogas (4) Nenhuma
No caso do uso de alguma substância acima, descrever freqüência e quantidade _____

AVALIAÇÃO DA ADESÃO -Assinalar os itens observados:
(1) quantidade (2) qualidade (3) padrão de refeições (4) adequação do ganho de peso semanal
Considerar - (4) adequação do ganho de peso semanal até +/-20% do programado na consulta anterior

Avaliação Dietética na 3^a. consulta – REC 24h- anexo 4

Quais refeições realiza por dia?

Desjejum Colação Almoço Merenda Jantar Ceia
 _____.

ATENÇÃO: Preencher os quadros de evolução antropométrica, clínica e dos exames

4a. CONSULTA	Data: _____ / _____ / _____
Pesquisador:	Registro GPSMI:
Nome: _____	
Grupo de Estudo: (1) G1- controle (2) G2- intervenção	IG: _____ semanas

ENTREVISTA E CONSULTA AOS PRONTUÁRIOS
Evolução clínica e nutricional

Evolução clínica do diabetes (descrever alteração no tratamento, internação, descrever episódios de hiper-JJ ≥ 95 e pós ≥ 140 /IG e hipoglicemia- <65):

Intercorrências e IG: _____

Aceitação ou alteração da dieta prescrita: _____

Insulinas em uso: (1)NPH (2) Regular (3)outras _____
Dose de insulina e horários: _____

ENTREVISTA
Dados de identificação, sociodemográficos e hábitos sociais

Alteração de endereço ou telefone: _____
Você está usando nesta gestação:(1) Bebida alcoólica (2) Cigarro (3) Drogas (4) Nenhuma
No caso do uso de alguma substância acima, descrever freqüência e quantidade _____

AVALIAÇÃO DA ADESÃO-Assinalar os itens observados
(1) quantidade (2) qualidade(3) padrão de refeições (4) adequação do ganho de peso semanal
Considerar - 4) adequação do ganho de peso semanal até +/-20% do programado na consulta anterior

Quais refeições realiza por dia?
 Desjejum Colação Almoço Merenda Jantar Ceia

ATENÇÃO: Preencher os quadros de evolução antropométrica, clínica e dos exames

5^a. CONSULTA	Data: _____ / _____ / _____
Pesquisador:	Registro GPSMI: _____
Nome: _____	
Grupo de Estudo: (1) G1- controle (2) G2- intervenção	IG: _____ semanas

ENTREVISTA E CONSULTA AOS PRONTUARIOS
Evolução clínica e nutricional

Evolução clínica do diabetes (descrever alteração no tratamento, internação, descrever episódios de hiper-JJ \geq 95 e pós \geq 140/IG e hipoglicemia- $<$ 60):

Intercorrências e IG: _____

Aceitação ou alteração da dieta prescrita: _____

Insulinas em uso: (1)NPH (2) Regular (3)outras _____
Dose de insulina e horários: _____

ENTREVISTA
Dados de identificação, sociodemográficos e hábitos sociais

Alteração de endereço ou telefone: _____
Você está usando nesta gestação: (1) Bebida alcoólica (2) Cigarro (3) Drogas (4) Nenhuma
No caso do uso de alguma substância acima, descrever frequência e quantidade _____

AVALIAÇÃO DA ADESÃO- Assinalar os itens observados
(1) quantidade (2) qualidade (3) padrão de refeições (4) adequação do ganho de peso semanal
Considerar - 4) adequação do ganho de peso semanal até +/-20% do programado na consulta anterior

Avaliação Dietética na 5^a. consulta - REC 24h (anexo 4)

Quais refeições realiza por dia?

- | | | | | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Desjejum | <input type="checkbox"/> Colação | <input type="checkbox"/> Almoço | <input type="checkbox"/> Merenda | <input type="checkbox"/> Jantar | <input type="checkbox"/> Ceia |
| <input type="checkbox"/> | | | | | |

ATENÇÃO: Preencher os quadros de evolução antropométrica, clínica e dos exames

6º. CONSULTA

Pesquisador:

Data: ____ / ____ / ____

Nome:

Registro GPSMI:

Grupo de Estudo: (1) G1- controle (2) G2- intervenção

IG: _____ semanas

ENTREVISTA E CONSULTA AOS PRONTUÁRIOS*Evolução clínica e nutricional*

Evolução clínica do diabetes (descrever alteração no tratamento, internação, descrever episódios de hiper- $\text{HbA1c} > 95$ e pós ≥ 140 /IG e hipoglicemia- < 65):

Intercorrências e IG: _____

Aceitação ou alteração da dieta prescrita: _____

Insulinas em uso: (1) NPH (2) Regular (3) outras _____

Dose de insulina e horários: _____

ENTREVISTA**Dados de identificação, sociodemográficos e hábitos sociais**

Alteração de endereço ou telefone: _____

Você está usando nesta gestação: (1) Bebida alcoólica (2) Cigarrilhas (3) Drogas (4) Nenhuma

No caso do uso de alguma substância acima, descrever frequência e quantidade _____

AVALIAÇÃO DA ADESÃO- Assinalar os itens observados

(1) quantidade (2) qualidade (3) padrão de refeições (4) adequação do ganho de peso semanal
 Considerar – (4) adequação do ganho de peso semanal até $\pm 20\%$ do programado na consulta anterior

Quais refeições realiza por dia?

- | | | | | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Desjejum | <input type="checkbox"/> Colação | <input type="checkbox"/> Almoço | <input type="checkbox"/> Merenda | <input type="checkbox"/> Jantar | <input type="checkbox"/> Ceia |
| <input type="checkbox"/> | | | | | |

ATENÇÃO: Preencher os quadros de evolução antropométrica, clínica e dos exames

AVALIAÇÃO NO PUERPERÍO

Pesquisador:	Data:
Nome:	Registro GPSMI:
Grupo de Estudo: (1) G1- controle (2) G2- intervenção	

CONSULTA AOS PRONTUARIOS*Avaliação materna:*

Peso pré-parto: _____ kg Peso na última consulta: _____ kg (IG DUM/US= _____ / _____)

Ganho total: _____ kg Adequação do ganho: (1) abaixo (2) adequado (3) acima

Intercorrências maternas no parto ou puerperio antes da alta hospitalar:

IG no parto (DUM/US): _____ / _____ s Tipo de parto: (1) normal (2) cesárea (3) forceps

Data do parto: _____ / _____ / _____ Tempo de internação da puérpera: _____

Controle glicêmico 1º. T: (1) Bom controle (2) Descontrole

Controle glicêmico 2º. T: (1) Bom controle (2) Descontrole

Controle glicêmico 3º. T: (1) Bom controle (2) Descontrole

Bom controle (GJ \leq 95mg/dl ou 1h após a refeição \leq 140mg/dl ou 2h \leq 120mg/dl)Descontrole (GJ $>$ 95mg/dl ou 1h após a refeição $>$ 140mg/dl ou 2h $>$ 120mg/dl)*Condições ao nascer:* (1) natimorto (2) óbito fetal (3) neonorte. Idade: _____ (4) nascido vivo
(5) malformação congênita

Peso: _____ g IG (Capurro): _____ semanas Comprimento: _____ cm PC: _____ cm

Sexo: (1) F (2) M Apgar 1'e 5': _____ / _____ Índice Ponderal: _____ kg/cm³

Correlação PIG: (1) PIG (2) AIG (3) GIG Método: _____

Intercorrências do RN e Idade: _____

Internação do RN: (1) AC (2) UTI. Tempo de internação: _____

Alimentação do RN na internação: (1) AM (2) Fórmula (3) AM + Complementação

Via de administração: (1) Oral (2) sonda _____ (3) Parenteral

Observações: _____

Início do AM: (1) CO (2) alojamento conjunto (_____ h pós-parto) (3) Unidade neonatal

Características da assistência pré-natal:

Nº de consultas no pré-natal (incluindo a triagem): _____

Outros profissionais que atenderem no PN além do obstetra: (1) nutrólogo (2) assistente social

(3) psicólogo (4) musicoterapeuta (4) outros _____

Nº de ações educativas: _____

Pesquisador:	Data:	/	/	Dia da semana:	
Nome:	Registro GPSMI:				

Com o objetivo de avaliar a sua atividade física diária, pedimos que você preencha o questionário abaixo. Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal.
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal.

Para responder as perguntas, considerar somente atividades realizadas por pelo menos 10 minutos continuos de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por pelo menos 10 minutos continuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias _____ por SEMANA () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos continuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

horas: _____ minutos: _____

2a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos continuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias _____ por SEMANA () Nenhum

2b Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos continuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ minutos: _____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos continuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias _____ por SEMANA () Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos continuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

_____ horas _____ minutos

4b Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?

_____ horas _____ minutos

Classificação:

- Sedentário
- Irregularmente ativo A
- Irregularmente ativo B
- Ativo
- Muito ativo

APÊNDICE B – PLANO ALIMENTAR – DIETA TRADICIONAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

MATERNIDADE-ESCOLA

Serviço de Nutrição e Dietética

Plano Alimentar para Gestantes _____ Kcal

Nome: _____ Registro: _____

<p>____ h. CAFÉ DA MANHÃ</p> <p>Leite: _____</p> <p>Pão: _____</p> <p>Manteiga, margarina ou requeijão: _____</p>	
<p>____ h. COLAÇÃO</p> <p>Fruta: _____</p>	
<p>____ h. ALMOÇO</p> <p>Carnes: _____</p> <p>Vegetal A (verduras) _____</p> <p>Vegetal B (legumes) _____ colheres de sopa</p> <p>Arroz: _____ colheres de sopa</p> <p>Feijão Simples: _____ concha(s)</p> <p>Azeite: _____ colheres de sobremesa</p> <p>Fruta: _____</p>	
<p>____ h. LANCHE</p> <p>Leite : _____</p> <p>Pão : _____</p> <p>Manteiga, margarina ou requeijão: _____</p>	
<p>____ h. JANTAR</p> <p>Carnes: _____</p> <p>Vegetal A (verduras) _____</p> <p>Vegetal B (legumes) _____ colheres de sopa</p> <p>Arroz: _____ colheres de sopa</p> <p>Feijão Simples: _____ concha(s)</p> <p>Azeite: _____ colheres de sobremesa</p> <p>Fruta: _____</p>	
<p>____ h. CEIA</p> <p>Leite : _____</p> <p>Fruta: _____</p>	

NUTRIÇÃO - GESTANTES COM DIABETES - DM-10-58

Consulte a lista de substituição de alimentos para variar seu cardápio

APÊNDICE C – PLANO ALIMENTAR – DIETA DASH

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO MATERNIDADE-ESCOLA

Serviço de Nutrição e Dietética
Plano Alimentar para Gestantes _____ Kcal

Nome: _____ Registro: _____

<p>_____ h. CAFÉ DA MANHÃ</p> <p>Leite desnatado: _____</p> <p>Pão integral: _____</p> <p>Manteiga, margarina ou requeijão light (sem adição de gordura vegetal): _____</p>	
<p>_____ h. COLAÇÃO</p> <p>Frutas: _____</p> <p>Castanhas ou sementes: _____</p>	
<p>_____ h. ALMOÇO</p> <p>Carnes: _____</p> <p>Vegetal A (verduras – à vontade): _____</p> <p>Vegetal B (legumes): _____ colheres de sopa</p> <p>Arroz integral: _____ colheres de sopa</p> <p>Feijão Simples: _____ concha(s)</p> <p>Azeite extra-virgem: _____ colheres de sobremesa</p> <p>Fruta: _____</p>	
<p>_____ h. LANCHE</p> <p>Leite desnatado: _____</p> <p>Pão integral: _____</p> <p>Manteiga, margarina ou requeijão light (sem adição de gordura vegetal): _____</p>	
<p>_____ h. JANTAR</p> <p>Carnes: _____</p> <p>Vegetal A (verduras – à vontade): _____</p> <p>Vegetal B (legumes): _____ colheres de sopa</p> <p>Arroz integral: _____ colheres de sopa</p> <p>Feijão Simples: _____ concha(s)</p> <p>Azeite extra-virgem: _____ colheres de sobremesa</p> <p>Fruta: _____</p>	
<p>_____ h. CEIA</p> <p>Leite desnatado: _____</p> <p>Fruta: _____</p> <p>Aveia em flocos: _____</p>	

NUTRIÇÃO - GESTANTES COM DIABETES- DM-10-08

Consulte a lista de substituição de alimentos para variar seu cardápio.

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



MATERNIDADE ESCOLA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Dieta DASH para Gestantes com Diabetes

Pesquisador: Cláudia Saunders

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 46913115.0.0000.5275

Instituição Proponente: Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.165.788

Data da Relatoria: 31/07/2015

Apresentação do Projeto:

Estudo proposto pelo INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO,DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA, GRUPO DE PESQUISA EM SAÚDE MATERNA E INFANTIL, onde irá realizar uma pesquisa com gestantes adultas com Diabetes Mellitus utilizando a dieta DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) que vem sendo sugerida como estratégia não medicamentosa promissora e eficiente na redução de eventos cardiovasculares em adultos e; em gestantes com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG), na redução da resistência insulínica, dos marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, na melhora do controle glicêmico e do perfil lipídico; na prevenção da macrossomia fetal, dentre outros benefícios. O estudo terá duas etapas. Na primeira será realizada a tradução da dieta DASH original e elaboração de uma proposta de plano alimentar próprio para gestantes brasileiras. A segunda etapa será um ensaio clínico randomizado controlado, no qual serão estudados dois grupos, o Grupo 1 (controle) no qual as gestantes receberão orientação nutricional com base na dieta tradicional brasileira e, o Grupo 2, que receberá orientação nutricional com base na dieta DASH. Ressalta-se que estudos utilizando a dieta DASH em gestantes com DM são inéditos tendo em vista a escassez de estudos com este grupo populacional tal estudo pode ser promissor, tendo em vista as características descritas da dieta DASH.

Objetivo da Pesquisa:

Primário:

Endereço:	Rua das Laranjeiras, 180	CEP:	22.240-003
Bairro:	Laranjeiras	Município:	RIO DE JANEIRO
UF:	RJ	Fax:	(21)2205-9064
Telefone:	(21)2556-9747	E-mail:	cep@me.ufrj.br



MATERNIDADE ESCOLA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



Continuação do Parecer: 1.165.788

-Propor e testar o efeito da Dieta DASH no resultado perinatal de gestantes com DM.

Secundários:

1^a. etapa do estudo

1. Realizar tradução da dieta DASH original;
2. Elaborar de uma proposta de plano alimentar com base na dieta DASH adaptada, segundo revisão da literatura e considerando os alimentos habitualmente utilizados por gestantes com DM com início prévio à gestação;
3. Elaborar boletim de orientação nutricional e material educativo, além de tabela de substituição de alimentos, para aplicação na orientação individualizada das gestantes, segundo as dietas tradicional e DASH;
4. Avaliar o custo da dieta DASH e compará-lo com o custo da dieta tradicional.

2^a. etapa do estudo

5. Construir os grupos de estudo (controle e intervenção) e descrever o perfil de saúde de gestantes com DM no baseline;
6. Aplicar a dieta DASH e a dieta tradicional na assistência nutricional pré-natal de gestantes diabéticas;
7. Avaliar e comparar a adesão das gestantes diabéticas ao plano alimentar proposto, segundo a dieta DASH e a tradicional;
8. Avaliar a associação entre a classificação do risco de pré-eclâmpsia no primeiro trimestre gestacional e o desenvolvimento de SHG entre os grupos de estudo;
9. Avaliar o efeito da dieta DASH nos desfechos maternos - características antropométricas (ganho de peso gestacional), nutricionais (consumo dietético de energia, macro e micronutrientes, presença de carências nutricionais), clínicas (presença de comorbidades na gestação, parto e/ou puerpério, níveis de pressão arterial, controle glicêmico) e, bioquímicas (glicemias plasmáticas de jejum e pós-prandial, hemoglobina glicada, perfil lipídico, marcadores de estresse oxidativo), entre as gestantes em uso da dieta DASH e da dieta tradicional;
10. Avaliar o efeito da dieta DASH nos desfechos neonatais - condições ao nascer (peso, idade gestacional ao nascer, malformações congênitas, intercorrências no período neonatal precoce, índice ponderal, correlação peso/idade gestacional ao nascer) e tipo

Endereço:	Rua das Laranjeiras, 180	CEP:	22.240-003
Bairro:	Laranjeiras	UF:	RJ
Município:	RIO DE JANEIRO	Fax:	(21)2205-9064
Telefone:	(21)2556-9747	E-mail:	cep@me.ufrj.br



MATERNIDADE ESCOLA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



Continuação do Parecer: 1.165.788

de parto entre os grupos de estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A etapa 1 do estudo será realizada com base nos dados da pesquisa "Contribuições Teórico-Práticas para a Assistência Pré-natal de Gestantes Diabéticas" que já foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Maternidade Escola/UFRJ em 15/10/2010(CAAE – 0017.0.361.361-10). Não apresentando riscos para as gestantes.

A etapa 2 do estudo informa que são os mesmos riscos aos quais as gestantes com DM estão expostas, hiperglicemia e hipoglicemia. Tais sinais e sintomas são comuns entre os indivíduos diabéticos que não tem uma boa adesão às orientações nutricionais. Embora na dieta DASH seja prevista uma ingestão de sódio controlada, a quantidade prevista está próxima à recomendação da WHO (2012), que é de 5g/sal/dia (2000mg/dia) para adultos

hipertensos e saudáveis, inclusive gestantes e puérperas (WHO, 2012). As gestantes serão orientadas à evitar o uso de alimentos salgados e industrializados ricos em sal de adição. E no caso de relato de hipotensão, os casos serão relatados ao médico assistente para avaliação e conduta.

Os riscos serão minimizados com orientação detalhada do plano alimentar, com agendamento da consulta individuais de retorno após a primeira consulta com o nutricionista de no máximo 15 dias, além das consultas em grupo quando também serão esclarecidas dúvidas das gestantes sobre a dieta. Além disso, serão disponibilizados números de telefone de membros da equipe de pesquisadores para que a gestante possa esclarecer dúvidas sobre a dieta. Outro desconforto que poderá ocorrer nas gestantes que receberão a orientação com base na dieta DASH será mudanças no padrão de funcionamento gastrintestinal, com eventual flatulência e diarréia, devido ao alto teor de fibra da dieta. Para minimizar tal desconforto, as gestantes serão orientadas a introduzir e aumentar gradativamente os alimentos ricos em fibra na alimentação habitual e estudos anteriores descrevem que a melhora da sintomatologia gastrintestinal melhora em poucos dias (Windhauser et al., 1999). Não haverá custos para as gestantes para a realização dos exames laboratoriais, nem para aquisição dos kits para auto-monitorização, tiras para medição da glicemia e insulina, pois, já são distribuídos rotineiramente pelo Serviço de Nutrologia da ME/UFRJ.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, factível e com plausibilidade.

Endereço: Rua das Laranjeiras, 180	CEP: 22.240-003
Bairro: Laranjeiras	
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2555-9747	Fax: (21)2205-9064
	E-mail: cep@me.ufrj.br



MATERNIDADE ESCOLA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO/ ME-UFRJ



Continuação do Parecer: 1.165.788

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos estão presentes e devidamente preenchidos.

Recomendações:

Recomenda-se a apresentação do protocolo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1 - De acordo com o item VII da Resolução CNS n.º 466/12, o pesquisador deverá apresentar relatórios anuais (parciais ou finais, em função da duração da pesquisa).

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.

RIO DE JANEIRO, 31 de Julho de 2015

Assinado por:

Ivo Basílio da Costa Júnior
(Coordenador)

Endereço:	Rua das Laranjeiras, 180	CEP:	22.240-003
Bairro:	Laranjeiras	UF:	RJ
Município:	RIO DE JANEIRO	Fax:	(21)2205-9064
Telefone:	(21)2556-9747	E-mail:	cep@me.ufrj.br