

CAROLINE KROLL

**INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS DOS GENES *ADIPOQ*, *LEP* E *FTO* NO
ESTADO NUTRICIONAL DE RECÉM-NASCIDOS**

JOINVILLE

2016

CAROLINE KROLL

**INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS DOS GENES *ADIPOQ*, *LEP* E *FTO* NO
ESTADO NUTRICIONAL DE RECÉM-NASCIDOS**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, pela Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE. Orientador: Prof. Dr. Marco Fábio Mastroeni.

JOINVILLE

2016

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

K93i Kroll, Caroline
Influência dos polimorfismos dos genes ADIPOQ, LEP e FTO no estado nutricional de recém-nascidos / Caroline Kroll; orientador Dr. Marco Fábio Mastroeni – Joinville: UNIVILLE, 2016.

69 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente
– Universidade da Região de Joinville)

1. Polimorfismo (Genética). 2. Adiponectina. 3. Leptina. 4. Recém-nascidos. 5. Estado nutricional. I. Mastroeni, Marco Fábio (orient.). II. Título.

CDD 616

Termo de Aprovação

“Influência dos Polimorfismos dos Genes ADIPOQ, LEP e FTO no Estado Nutricional de Recém-Nascidos”

por

Caroline Kroll

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.



Prof. Dr. Marco Fabio Mastroeni

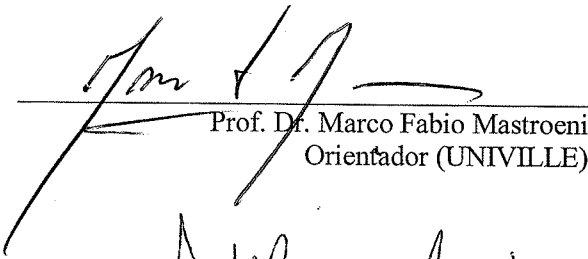
Orientador (UNIVILLE)



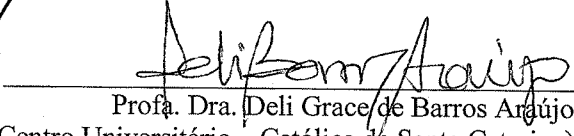
Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

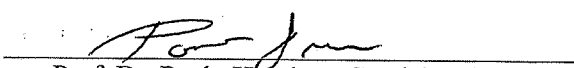
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Marco Fabio Mastroeni
Orientador (UNIVILLE)



Profa. Dra. Deli Grace de Barros Araújo
(Centro Universitário – Católica de Santa Catarina)



Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França
(UNIVILLE)

Joinville, 04 de fevereiro de 2016

Aos meus pais, meu irmão e meu esposo por todo o amor e confiança em mim depositados, acreditando que cada sonho meu pode se tornar realidade.
Vocês são a minha vida!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus pela vida e pela luz que ilumina a minha caminhada.

Quero agradecer de forma especial aos meus pais, Celso e Matilde, que desde muito cedo acreditaram em mim e me incentivaram. Sem eles, nada eu seria.

Ao Filipe, meu irmão, que me apoiou com o seu mais puro e verdadeiro amor. Muito obrigada por sua gratidão.

Ao meu marido, Celso, que desde o início esteve comigo, me incentivando e dando todo o seu amor a cada minuto. Sem sua cumplicidade e seu amor a vida não teria sentido.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Fábio Mastroeni, que sempre acreditou em mim e me fez crescer a cada dia mais, não medindo esforços para me orientar e me ensinar, mesmo a distância.

À toda a minha família, que apesar de nem sempre entender o que exatamente estou fazendo nunca deixou de me apoiar. Ao meu falecido avô, Antônio, que muitas vezes recorri em oração. Sei que o senhor está iluminando meus passos.

À minha turma de mestrado, que se tornou uma família para mim. Cada pessoa, com seu carinho especial, fez com que esses dois anos fossem maravilhosos. Em especial quero agradecer a Fernanda, a Monique e a Yara, meu amado grupo de trabalho e de vida.

Às minhas companheiras de pesquisa, em especial a minha amiga Sandra, que além de amiga se tornou uma mãe.

Ao Laboratório de Biologia Molecular da Univille, em especial a Leslie, ao prof. Paulo e a Silvia que me acompanharam por toda essa trajetória, desde a graduação.

A todos os meus amigos que acompanham a minha caminhada na vida acadêmica, sempre acreditando em mim.

De forma especial, quero também agradecer a secretária do PPGSMA, Débora, que desde o início do mestrado me ajudou muito.

À professora Dra. Deli Grace de Barros Araújo e ao professor Dr. Paulo Henrique Condeixa França por disponibilizaram seu tempo para contribuir com esse trabalho.

E por fim quero agradecer a todos os professores que passaram em minha vida. Vocês foram e são meus exemplos. Sem cada um de vocês, não chegaria até aqui.

*Escolha um trabalho que você ame e
não terás que trabalhar um único dia em sua vida.*

Confúcio

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a associação dos polimorfismos *ADIPOQ* rs2241766, *LEP* rs7799039 e *FTO* rs9939609 no estado nutricional de recém-nascidos (RN). Trata-se de um estudo transversal conduzido em uma maternidade do município de Joinville/SC, Brasil. Foram incluídos RN grandes para a idade gestacional (GIG) (n = 105) e o mesmo número de RN pequenos para a idade gestacional (PIG) e adequados para a idade gestacional (AIG). A genotipagem foi realizada utilizando-se os métodos de reação em cadeia da polimerase – análise de polimorfismos de comprimentos de fragmentos de restrição (PCR-RFLP). Utilizou-se análise de regressão logística para analisar a associação entre RN GIG e os polimorfismos investigados. Como resultado, RN com o genótipo *LEP* -2548GG apresentaram 2,12 vezes mais chances de nascerem GIG quando comparados aos RN com os genótipos *LEP* -2548GA+AA (95% IC: 1,17-3,83). Não houve alteração substancial do resultado mesmo após ajustes para outras covariáveis como idade, educação, renda familiar, estado civil, ganho de peso gestacional, tabagismo antes da gestação, presença de diabetes e sexo. Em relação ao polimorfismo do gene *ADIPOQ*, RN com os genótipos TG ou GG apresentaram 1,88 vezes mais chances de nascerem GIG quando comparados aos RN com o genótipo TT, entretanto não houve significância estatística (95% IC: 0,92-3,80). Não houve associação entre o polimorfismo do gene *FTO* e o estado nutricional dos RN. Concluindo, nosso estudo revelou que o genótipo GG do polimorfismo rs7799039 do gene *LEP* é um fator de risco para RN GIG. No entanto, são necessários mais estudos para elucidar o efeito desse polimorfismo no estado nutricional de crianças em outras idades.

Palavras-chave: Polimorfismo; *ADIPOQ*; *LEP*; *FTO*; Estado nutricional.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of *ADIPOQ* rs2241766, *LEP* rs7799039 and *FTO* rs9939609 polymorphisms on weight status of infants. This is a cross-sectional study conducted in a public maternity hospital in the city of Joinville/SC, Brazil. We included large for gestational age (LGA) newborns (n = 105) and the same number of small for gestational age (SGA)/adequate for gestational age (AGA) newborns. Genotyping of the polymorphisms were performed using polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Logistic regression analysis was used to investigate the association between LGA newborns and the polymorphisms. As result, infants carrying *LEP* -2548GG genotype had 2.12 times more odds of born LGA when compared with newborns caring *LEP* -2548GA+AA genotypes (95% CI: 1.17-3.83). These results did not change substantially after adjusting for potential confounding variables as age, education, family income, marital status, gestational weight gain, smoking before pregnancy, presence of diabetes and sex. Regarding the *ADIPOQ* polymorphism, newborns carrying TG or GG genotypes had 1.88 more odds of born LGA when compared with infants carrying TT genotype, however without statistic significance (95% CI: 0.92-3.80). No association was found between *FTO* gene polymorphism and newborn weight status. Concluding, our study found that GG genotype of *LEP* polymorphism rs7799039 is a risk factor for LGA infants. Nevertheless, more studies are needed to elucidate the effect of this polymorphism in the weight status of children at other ages.

Key words: *Polymorphism; ADIPOQ; LEP; FTO; Weight status*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Objetivos	11
1.1.1	Objetivo geral	11
1.1.2	Objetivos específicos	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Sobrepeso e obesidade	13
2.2	Estado nutricional de recém-nascidos	15
2.3	Genética da obesidade	16
2.3.1	Gene da Adiponectina (<i>ADIPOQ</i>)	16
2.3.1.1	Polimorfismo rs2241766 do gene <i>ADIPOQ</i>	17
2.3.2	Gene da Leptina (<i>LEP</i>)	18
2.3.2.1	Polimorfismo rs7799039 do gene <i>LEP</i>	19
2.3.3	Gene <i>Fat mass and obesity-associated</i> (<i>FTO</i>)	21
2.3.3.1	Polimorfismo rs9939609 do gene <i>FTO</i>	21
3	METODOLOGIA	24
3.1	Delineamento do estudo	24
3.2	Participantes do estudo e composição da amostra	24
3.3	Coleta de dados	25
3.4	Análise genotípica	29
3.4.1	Análise do polimorfismo rs2241766 do gene <i>ADIPOQ</i>	31
3.4.2	Análise do polimorfismo rs7799039 do gene <i>LEP</i>	32
3.4.3	Análise do polimorfismo rs9939609 do gene <i>FTO</i>	33
3.5	Processamento dos dados e análise estatística	35
3.6	Aspecto ético	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5	CONCLUSÃO	55

REFERÊNCIAS	55
APÊNDICES	66
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	67
APÊNDICE B – Confirmação da submissão do artigo científico ao periódico <i>American Journal of Human Biology</i>	69

1 INTRODUÇÃO

O número de crianças com excesso de peso e obesidade vem aumentando progressivamente nas últimas décadas, tornando-se um sério problema de saúde pública^{1, 2}. Estima-se que existam 42 milhões de crianças menores de cinco anos de idade com excesso de peso em todo o mundo¹. No Brasil, 33,5% das crianças entre cinco a nove anos estavam acima do peso em 2010, e 14,3% eram consideradas obesas³.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade infantil é um dos desafios mais graves de saúde pública do século XXI, uma vez que aumenta-se a chance da criança obesa tornar-se um adulto obeso, acometido por diversas afecções, em uma idade cada vez menor⁴. Entre as principais consequências da obesidade destacam-se: diabetes mellitus tipo II, hipertensão, doenças cardiovasculares, dislipidemias, cânceres, alterações ortopédicas, dermatológicas e respiratórias, e até mesmo desordens psicológicas⁴⁻⁷. Em crianças, a obesidade pode, ainda, dificultar o processo de aprendizagem motora e o crescimento físico⁸.

A obesidade é determinada por fatores ambientais e genéticos, sendo caracterizada como uma doença crônica complexa⁹. Recentemente, alguns estudos demonstraram associação entre excesso de peso e fatores genéticos¹⁰⁻²⁰. Alguns autores revelaram que 40-70% do fenótipo da obesidade possui caráter hereditário²¹, com mais de 600 genes, marcadores e regiões cromossômicas envolvidos no fenótipo²². Dentre eles destacam-se os genes da adiponectina (*ADIPOQ*)^{17, 23, 24}, leptina (*LEP*)^{13, 14, 16, 20, 25-27} e *fat mass and obesity-associated protein* (*FTO*)^{10, 11, 28-30}.

Desta forma, o uso de variáveis genéticas para identificar precocemente o risco de doenças crônicas não transmissíveis possui potencial para auxiliar na elaboração

de estratégias e programas que visem a redução ou eliminação dessas enfermidades. Em recém-nascidos, ainda são escassos estudos envolvendo determinantes genéticos, sobretudo em relação ao estado nutricional. Até o desenvolvimento desta dissertação não foram encontrados trabalhos que avaliaram a associação entre os polimorfismos dos genes *ADIPOQ*, *LEP* e *FTO* e o estado nutricional de recém-nascidos. Neste sentido, o presente estudo buscou avaliar se existe associação entre os polimorfismos dos genes *ADIPOQ*, *LEP* e *FTO* e o estado nutricional de recém-nascidos.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar se os polimorfismos dos genes *ADIPOQ* (rs2241766), *LEP* (rs7799039) e *FTO* (rs9939609) estão associados ao estado nutricional de recém-nascidos.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar as frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos dos genes *ADIPOQ* (rs2241766), *LEP* (rs7799039) e *FTO* (rs9939609) nos recém-nascidos;
- Verificar se existe associação entre as variáveis preditoras “polimorfismos dos genes *ADIPOQ* (rs2241766), *LEP* (rs7799039) e *FTO* (rs9939609)” e a variável desfecho “estado nutricional”, ajustando para possíveis covariáveis de

confusão sócio demográficas, biológicas e antropométricas da mãe e do recém-nascido.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sobrepeso e obesidade

O sobrepeso (IMC ≥ 25 e < 30 kg/m²) e a obesidade (IMC ≥ 30 kg/m²) são definidos como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, representando risco à saúde¹. A obesidade é um processo de deposição de gordura nos adipócitos, cuja proliferação e diferenciação são reguladas por mudanças na expressão gênica³¹. O desequilíbrio energético pode ser considerado a principal causa da obesidade¹. Contudo, a patogênese da obesidade é complexa, envolvendo interações entre fatores comportamentais, ambientais e genéticos¹⁸.

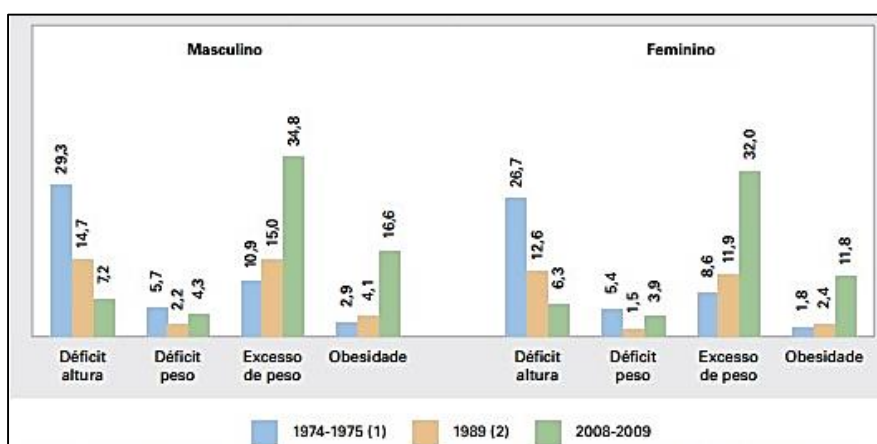
A prevalência de obesidade mundial mais que dobrou desde 1980¹, e desde então é tratada como uma epidemia global². Em 2014, mais de 1,9 bilhão (39%) de adultos (com 18 anos ou mais) no mundo estavam com excesso de peso, e 600 milhões (13%) eram considerados obesos¹. Entre as crianças com menos de cinco anos, 42 milhões estavam com sobrepeso ou obesidade¹.

No Brasil, 50% dos homens e 48% das mulheres estavam com excesso de peso em 2010, sendo que 12,5% dos homens e 16,9% das mulheres eram obesos³. No mesmo ano, 33,5% das crianças de cinco a nove anos estavam acima do peso, 16,6% eram meninos obesos e 11,8% meninas obesas³.

Outro fator que vem recebendo destaque nos últimos anos é a transição do perfil nutricional da população mundial. Nas últimas décadas, o perfil nutricional da população, independente de gênero e idade, vem passando por mudanças expressivas³²⁻³⁴. Houve diminuição no número de pessoas com déficit de peso em diversos países, incluindo o Brasil^{32, 33}. Em contrapartida, o sobrepeso e a obesidade

sofreram um aumento substancial³⁴. Na Figura 1 é possível observar a evolução de indicadores antropométricos em crianças ao longo das décadas no Brasil, evidenciando essa transição nutricional. As crianças e adolescentes vêm aumentando de peso à razão de 0,2 Kg por ano¹⁹.

Figura 1 - Prevalência de déficit de altura, déficit de peso, excesso de peso e obesidade na população com 5 a 9 anos de idade, por sexo – Brasil – períodos 1974-1975, 1989 e 2008-2009.



Fontes: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Estudo Nacional da Despesa Familiar 1974-1975 e Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003/2008-2009; Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição, Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição 1989³.

O aumento gradativo do sobrepeso e da obesidade ocorre desde a infância até a idade adulta, sendo que alguns fatores são significativos para o risco de obesidade ainda na fase infantil, tais como: obesidade dos pais, sedentarismo, peso ao nascer, ausência de aleitamento materno, fatores relacionados ao crescimento, situação sócio econômica, fatores ambientais e fatores genéticos^{19, 32, 35-37}. A obesidade infantil é um dos desafios mais graves de saúde pública do século XXI⁴. Crianças que apresentam excesso de peso ou obesidade no primeiro ano de vida tendem a ficar obesas quando adultas, e a desenvolverem doenças não transmissíveis em uma idade mais jovem⁴. Alguns estudos têm demonstrado

associação do peso ao nascer com o aumento do IMC na fase adulta e o desenvolvimento tardio da obesidade, diabetes, dislipidemias e doenças cardiovasculares^{32, 38-40}.

2.2 Estado nutricional de recém-nascidos

O estado nutricional de recém-nascidos é determinado pela oferta nutricional materna, pela transferência placentária, bem como pelo potencial de crescimento determinado pelo genoma⁴¹. Portanto, o peso ao nascer é considerado um importante indicador do estado nutricional tanto do recém-nascido quanto da gestante; visto que o feto mantém relação direta com a mãe, através do cordão umbilical, por todo o período gestacional⁴. Além disto, o peso ao nascer refletirá condições pós-natais que repercutirão na saúde do adulto⁴². Dessa forma, avaliar o peso ao nascer permite identificar riscos extremos de baixo peso ou excesso de peso, fatores relevantes à saúde do indivíduo na fase neonatal, na infância e na idade adulta⁴³.

Existem diferentes métodos para classificação do estado nutricional de recém-nascidos, cuja seleção varia de acordo com o objetivo de estudo. Um dos métodos amplamente utilizado, e com melhor precisão para avaliar o excesso de massa corporal em recém-nascidos, considera o peso (em gramas) e a idade (em semanas), segundo o sexo. Esse método classifica os recém-nascidos em três categorias: pequeno para a idade gestacional (PIG), percentil <10; adequado para a idade gestacional (AIG), percentil ≥ 10 e ≤ 90 ; e grande para a idade gestacional (GIG), percentil > 90⁴⁴.

2.3 Genética da obesidade

O fenótipo da obesidade é determinado em 40 a 70% por fatores hereditários²¹. A última atualização do mapa genético da obesidade, realizada em 2005, revelou mais de 600 genes, marcadores e regiões cromossômicas associados à obesidade²². O T-HOD, um banco de dados com base na literatura sobre genes candidatos para hipertensão, obesidade e diabetes, registrou 893 genes candidatos para a obesidade até o presente momento⁴⁵. Em recém-nascidos, estudos epidemiológicos têm mostrado que fatores genéticos são responsáveis por 30-80% do peso ao nascer⁴⁶. Dessa forma, se atualmente as crianças estão acima do peso, deve-se, em grande parte, às variações genéticas de cada indivíduo⁴⁷.

Deve-se salientar que a presença de polimorfismos genéticos na população pode aumentar a susceptibilidade para o desenvolvimento de enfermidades⁴⁸, como a obesidade. Os polimorfismos são alterações genéticas derivadas de mutações não letais, no qual um loco possui mais de um alelo funcional e estão presentes na população com uma frequência de, no mínimo, 1%⁴⁸.

2.3.1 Gene da Adiponectina (*ADIPOQ*)

O gene da adiponectina, também conhecido como *ADIPOQ*, *ACDC*, *ADPN*, *APM1*, *APM-1*, *GBP28*, *ACRP30*, *ADIPQTL1*, está localizado no cromossomo 3 na região 3q27⁴⁹⁻⁵¹.

O gene *ADIPOQ* codifica a adiponectina, uma proteína secretora formada por 244 aminoácidos com peso de 30 kDa, com similaridade para colágenos X e VIII, fator do complemento C1q, e Fator de Necrose Tumoral α (TNF α)^{49, 53, 54}. A adiponectina é

encontrada em abundância no soro humano e possui expressão exclusiva no tecido adiposo, sendo induzida durante o processo de adipogênese^{49-51, 53}. No plasma, a adiponectina está envolvida com processos metabólicos e hormonais⁴⁹.

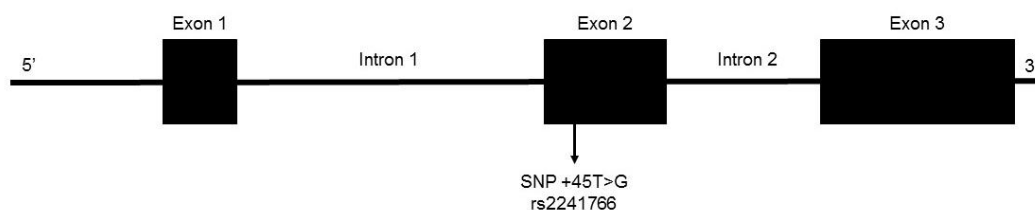
A adiponectina, descoberta em meados de 1990 por Scherer, Williams, Fogliano *et al.*⁵⁴, participa da homeostase energética, através do catabolismo de carboidratos e lipídeos, e configura-se como uma molécula de sinalização para o tecido adiposo, sendo afetada pela obesidade⁵³⁻⁵⁵.

Diferentemente da maioria das proteínas secretadas por adipócitos, a adiponectina tem sua expressão diminuída à medida que o tecido adiposo aumenta^{50, 56}, dessa forma a sua concentração no soro encontra-se reduzida em indivíduos obesos⁵⁷. Indivíduos com baixas concentrações de adiponectina – hipoadiponectinemia – apresentam maior resistência insulínica⁵⁸, e síndrome metabólica⁵⁹. Os níveis séricos de adiponectina no plasma são influenciados 40 a 70% por fatores genéticos⁶⁰. Alguns estudos mostraram que mutações no gene *ADIPOQ* levam a hipoadiponectinemia^{49, 53, 54}, a alterações do peso corporal, da circunferência da cintura, do colesterol total e da pressão arterial^{61, 62}.

2.3.1.1 Polimorfismo rs2241766 do gene *ADIPOQ*

O polimorfismo rs2241766 representa a transversão do nucleotídeo Timina (*T*) pelo nucleotídeo Guanina (*G*) na posição 45 do *éxon* 2 do gene codificante da adiponectina (Figura 2), levando a uma mutação silenciosa *GGT*→*GGG*, Gly→Gly, a qual impacta nos níveis séricos da proteína⁶³. A média mundial da frequência genotípica encontra-se em 78% *TT*, 20% *TG*, e 2% *GG*, enquanto que a frequência alélica apresenta-se em 0,80 para o alelo "*T*" e 0,12 para o alelo "*G*"⁶⁴.

Figura 2 – Localização do SNP rs2241766



Fonte: da autora

Recentemente alguns estudos demonstraram haver associação do genótipo GG com o risco da obesidade¹⁷, sendo que o alelo “G” do polimorfismo rs2241766 está associado ao aumento da gordura total e abdominal^{17, 65, 66}, síndrome metabólica e gordura corporal^{17, 65, 66}. Outro estudo também demonstrou haver associação do alelo “G”, do SNP rs2241766, com maior peso ao nascer e maior índice ponderal em recém-nascidos coreanos²⁴.

2.3.2 Gene da Leptina (*LEP*)

O gene da leptina, também conhecido por *LEP*, *OB*, *OBS* ou *LEPD*, está localizado no cromossomo 7 na região 7q31.3⁶⁷.

A leptina, descrita pela primeira vez por Zhang *et al.* em 1994⁶⁹, é um hormônio composto por 167 aminoácidos, com peso molecular de 16 kDa e é produzida nos humanos principalmente pelo tecido adiposo⁶⁹. Sua principal função é fornecer ao sistema nervoso central sinais para consumo e estoque de energia no corpo, para que assim, o hipotálamo possa eficientemente regular o peso corporal estável⁷⁰. Quando a leptina se liga aos seus receptores específicos, nas regiões hipotalâmicas, ela promove a regulação da ingestão alimentar, do peso, do metabolismo corporal e das

funções reprodutivas⁷¹. Dessa maneira, durante períodos de privação alimentar seus níveis diminuem, ativando respostas comportamentais, hormonais e metabólicas⁷¹. Mutações nesse gene podem causar obesidade grave, e obesidade mórbida com hipogonadismo⁶⁷.

Em humanos, a leptina plasmática está correlacionada com a gordura corporal, uma vez que indivíduos obesos apresentam maior concentração de leptina plasmática quando comparados a indivíduos controles^{72, 73}.

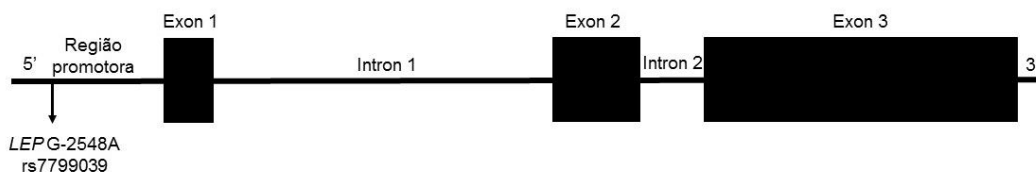
Além do tecido adiposo branco, a leptina também pode ser produzida por trofoblastos placentários e células amnióticas do útero de mulheres grávidas, sendo identificada, juntamente com seus receptores, durante a fase gestacional⁷⁴⁻⁷⁶. Em recém-nascidos a leptina está associada com o peso ao nascer, IMC e gordura do braço⁷⁶. Recém-nascidos com baixos níveis de leptina ($\leq 5,6$ ng/mL) apresentam menor peso ao nascer, enquanto que altos níveis de leptina ($\geq 30,7$ ng/mL) estão associados ao maior peso ao nascer e menor perda de peso nas primeiras 96 h de vida, quando comparados com recém-nascidos com níveis normais de leptina⁷⁷. Portanto, recém-nascidos GIG apresentam níveis mais elevados de leptina no cordão umbilical quando comparados a recém-nascidos AIG⁷⁸.

2.3.2.1 Polimorfismo rs7799039 do gene *LEP*

O polimorfismo rs7799039, encontra-se na região 5' promotora do gene (Figura 3), e consiste na substituição de uma guanina (G) por uma adenina (A)²⁰. A média mundial da frequência genotípica do polimorfismo da leptina é de 52% AG, 28% GG, 20% AA, enquanto que a frequência alélica é de 0,54 para o alelo "G", e 0,46 para o alelo "A"⁷⁹. O polimorfismo é relacionado a variações na concentração sérica da

leptina e ao estado nutricional^{14, 15}. No entanto, a literatura é controversa, e alguns estudos revelaram existir associação entre sobrepeso e obesidade para o alelo “A” enquanto outros demonstraram associação para o alelo “G”^{13, 15, 20, 25-27}.

Figura 3 – Localização do SNP rs7799039



Fonte: da autora

Alguns estudos revelaram haver associação entre o genótipo AA, do polimorfismo rs7799039, com o aumento do risco de obesidade e síndrome metabólica, além do aumento do IMC, do gasto energético, da circunferência da cintura, dos níveis séricos da leptina, insulina, colesterol total e colesterol de baixa densidade^{13, 20}. Entretanto, o entendimento do efeito do genótipo AA do polimorfismo sobre diversos fatores de risco ainda é controverso na literatura científica. Alguns autores demonstraram que o genótipo AA está associado a diminuição do IMC, da circunferência da cintura, do percentual de gordura corporal e dos níveis de leptina sérica¹⁵ e, que por sua vez, é o genótipo GG que está associado a obesidade extrema (IMC ≥ 35 kg/m²), e ao aumento da circunferência da cintura²⁷. Em um estudo envolvendo mulheres brasileiras, a presença do alelo “G” contribuiu para o aumento da leptina plasmática e do IMC²⁵, induzindo, ainda, um aumento de até oito vezes as chances destas tornarem-se obesas quando comparadas às mulheres que apresentaram o alelo “A”²⁶.

2.3.3 Gene *Fat mass and obesity-associated (FTO)*

O gene *FTO*, localizado no cromossomo 16 na região 16q12.2⁸⁰, produz uma proteína de 505 aminoácidos e peso molecular de 58 kDa, e pertencente a superfamília da dioxigenase não heme (Fe (II) e dioxigenases 2-oxaglutarato-dependente)^{81, 82}. Entretanto, sua função no organismo ainda é pouco conhecida.

O gene *FTO* foi descrito inicialmente por Frayling, Timpson, Weedon *et al.*²⁸, através de um estudo de *Genome Wide Association (GWAS)*, o qual revelou haver associação do gene *FTO* com o IMC em 14 populações mundiais. A partir de então passou a ser considerado um gene comum da obesidade²⁸. Em humanos, há elevada expressão do gene *FTO* no cérebro – com regulação promovida pelo estado de jejum⁸⁴ – no tecido adiposo, fígado, pâncreas, musculatura esquelética estriada e cardíaca, rins, gônadas, entre outros tecidos⁸². Tal característica sugere um possível papel no controle da homeostase energética, com o produto do *FTO* atuando como regulador primário do acúmulo de gordura corporal^{80, 82}.

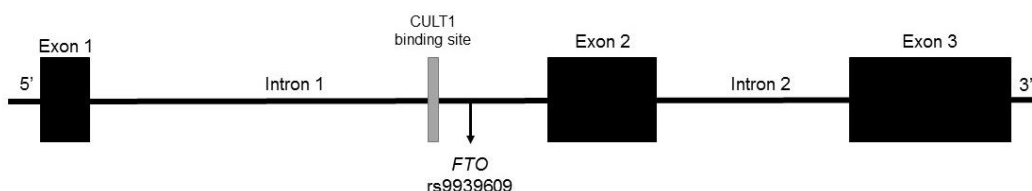
Em ovinos, com sequência homóloga do gene *FTO* em humanos, há uma relação positiva entre o peso fetal e a expressão placentária do gene *FTO*, e sua expressão não sofre influência da alimentação materna⁸⁵. Em ratos, a inativação do gene *FTO* leva à diminuição do peso, do comprimento, da massa corporal e dos tecidos adiposos branco e marrom⁸⁶.

2.3.3.1 Polimorfismo rs9939609 do gene *FTO*

O polimorfismo rs9939609 do gene *FTO* é um SNP localizado no primeiro *íntron* do gene⁸⁷ (Figura 4), e está associado a valores elevados de IMC²⁸. A média mundial

da frequência genotípica é de 44% *TT*, 44% *TA*, e 12% *AA*, e a frequência alélica é de 0,66 para o alelo “*T*”, e 0,34 para o alelo “*A*”⁸⁸.

Figura 4 – Localização do SNP rs9939609



Fonte: da autora

O alelo “*A*” do gene *FTO* está diretamente relacionado a um maior acúmulo de gordura corporal, principalmente quando se apresenta em homozigose^{10, 28, 82}. A variante “*A*” do polimorfismo rs9939609 do gene *FTO* possui efeito sobre o ganho de peso, induzindo uma diminuição da sensibilidade da insulina cerebrocortical, afetando o apetite, a escolha do alimento (proteína/carboidrato), e a ingestão dietética em idade precoce^{89, 90}.

A perda do controle alimentar é o fenótipo comportamental relatado com mais frequência por crianças e adolescentes que apresentam pelo menos um alelo “*A*” do desse polimorfismo, agindo como fator de risco para o desenvolvimento da obesidade⁹¹. Alguns autores demonstraram que 16% dos indivíduos adultos homozigotos para o alelo de risco (*A*) pesam cerca de 3 Kg a mais e possuem 1,67 vezes mais chances de serem obesos quando comparados com aqueles que não herdaram o alelo de risco²⁸.

Crianças e adolescentes com pelo menos um alelo “*A*” têm um risco aumentado para o desenvolvimento da obesidade e apresentam valores superiores de IMC, circunferência da cintura, circunferência do quadril, pressão arterial sistólica, pressão

arterial diastólica e glicemia em jejum, quando comparados com indivíduos com genótipo *TT*. Adicionalmente, indivíduos com pelo menos um alelo “*A*” apresentam elevadas concentrações de triglicerídeos e colesterol de baixa densidade, e menores índices de colesterol de alta densidade quando comparados com indivíduos que apresentam o genótipo *TT*¹².

Um estudo realizado por Descamps, Tarantino & Guilmot⁹² revelou um efeito paradoxo em recém-nascidos, no qual o alelo de risco (“*A*”) está associado à diminuição de 79 g no peso ao nascer⁹². Uma das explicações para o efeito contrário do alelo “*A*” é a ação que o gene *FTO* produz na regulação da secreção e da sensibilidade à insulina, levando a hipoinsulinemia e por consequência ao baixo peso ao nascer⁹². Entretanto, são necessários mais estudos para saber o efeito real polimorfismo *FTO* em recém-nascidos.

3 METODOLOGIA

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo transversal desenvolvido com os dados dos pares (mães–recém-nascidos) de um estudo maior denominado “Preditores da retenção de peso da parturiente no pós parto e do estado nutricional do recém-nascido (PREDI)”. A coleta de dados do projeto PREDI foi conduzida no período de janeiro a fevereiro de 2012, na Maternidade pública Darcy Vargas (MDV), em Joinville/SC, e foi composta por 435 mães e seus filhos.

Para o presente estudo foram considerados apenas os indivíduos GIG (n=105), e o mesmo número de recém-nascidos classificados como não-GIG, portanto AIG e FIG. Os indivíduos AIG/FIG foram agrupados em uma única categoria e selecionados a partir de uma amostragem aleatória simples.

A MDV é responsável por 91% dos nascimentos ocorridos em hospitais públicos no município de Joinville/SC⁹³, e possui o título “Hospital Amigo da Criança” (OMS/UNICEF). Atualmente, aproximadamente 7.200 partos são realizados anualmente na MDV.

3.2 Participantes do estudo e composição da amostra

Foram incluídos no projeto PREDI todos os recém-nascidos vivos atendidos na MDV entre os dias 14/01 e 16/02/2012, com idade gestacional entre 37 e 42 semanas, e de parto único, conforme dados previamente publicados⁹⁴. Foram excluídos do estudo recém-nascidos que apresentaram algum tipo de anomalia que interferisse na

avaliação pondero estatural; filhos de mães com pré-eclâmpsia e/ou diagnosticadas com toxoplasmose, HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), sífilis ou hepatites; e que apresentaram dados incompletos ao estudo.

3.3 Coleta de dados

Até 48 horas após o parto, cada parturiente foi contatada pela equipe de pesquisa e convidada a participar do estudo. Em seguida, prosseguiu-se com a coleta dos dados por meio de entrevistas contendo informações socioeconômicas, demográficas e biológicas de mães – para descrição da amostra – e recém-nascidos.

Características gerais da mãe

Nome completo, idade, estado civil, anos de estudo, renda familiar em salários mínimos, tabagismo antes da gestação (se fumava), paridade (número de filhos), intervalo interpartal (tempo, em meses, desde o último parto), presença de diabetes, e via de parto (normal ou cesárea). Com exceção da via de parto, a qual foi retirada do Livro de Registros do Berçário, as demais características foram relatadas pelas parturientes.

Características antropométricas

Estatura, peso e IMC pré-gestacional

Para a medida da estatura pré-gestacional e do peso considerou-se o relatado pela puérpera. Optou-se em não utilizar a medida do peso e estatura descrita no cartão do pré-natal devido a esta variar consideravelmente quanto ao mês em que foi aferida e, também, pela ausência dessa medida em vários cartões. O IMC pré-gestacional foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela estatura (m) ao quadrado, e foi utilizado para classificar as gestantes de acordo com o estado nutricional inicial em: baixo peso ($<18,5\text{kg/m}^2$), eutrofia ($18,5\text{ kg/m}^2$ e $24,9\text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($25,0\text{ kg/m}^2$ e $29,9\text{ kg/m}^2$) e obesidade ($\geq 30,0\text{ kg/m}^2$)².

Ganho de peso gestacional

O cálculo do ganho de peso gestacional foi efetuado subtraindo-se o peso obtido no momento da internação na MDV, efetuado pela triagem e anotado no prontuário, pelo peso relatado pela puérpera antes da gestação. A adequação do ganho de peso gestacional foi avaliada segundo as novas recomendações do *Institute of Medicine* - IOM⁹⁵ e baseadas no IMC pré-gestacional. Mulheres com baixo peso devem ganhar entre 12,5 e 18 kg; mulheres com IMC adequado entre 11,5 e 16,0 kg, mulheres com sobrepeso entre 7,0 e 11,5 kg e mulheres com obesidade entre 5,0 e 9,0 kg. Considerou-se como ganho de peso gestacional excessivo quando a mãe acumulou peso superior ao recomendado pelo IOM⁹⁵, independente da classificação nutricional segundo a OMS². Ou seja, para cada categoria da classificação do estado nutricional

(baixo peso, peso normal, sobrepeso, obesidade), foram identificadas as puérperas que ganharam peso acima do recomendado pelo IOM, agrupando-as em uma mesma variável: ganho de peso gestacional excessivo.

Características gerais dos recém-nascidos

As medidas antropométricas peso e comprimento foram coletadas do Livro de Registros do Berçário, localizado na triagem dos recém-nascidos. O peso foi aferido em balança eletrônica da marca Urano®, modelo UBB 20/2, com capacidade de até 20 kg e divisão de 0,2 kg. Para a mensuração do comprimento utilizou-se um estadiômetro portátil da marca Cardiomed® com capacidade para até 220 cm e divisão de 0,1 cm.

Estado nutricional

O estado nutricional foi classificado segundo Lubchenco, Hansman, Dressler *et al.*⁴⁴, o qual leva em consideração o peso (gramas), idade (semanas) e o sexo sendo definido como: pequeno para a idade gestacional (PIG): recém-nascidos com percentil <10; adequado para a idade gestacional (AIG): recém-nascidos com percentil ≥ 10 e ≤ 90 ; e GIG: recém-nascidos com percentil >90 (Tabela 1).

Tabela 1 – Tabela de classificação do estado nutricional

Idade gestacional (Semanas)	Peso (g), segundo sexo e percentil					
	Masculino			Feminino		
	P10	P50	P90	P10	P50	P90
37	2330	2930	3540	2220	2800	3450
38	2505	3080	3665	2405	2940	3545
39	2630	3200	3780	2540	3060	3640
40	2700	3290	3880	2630	3160	3720
41	2735	3330	3940	2600	3210	3705
42	2730	3310	3995	2630	3210	3840

Fonte: Lubchenco, Hansman, Dressler *et al.*⁴⁴

Índice Ponderal de Rohrer

O índice ponderal de Rohrer (IP) foi analisado para determinar a simetria fetal do recém-nascido. O cálculo foi obtido pela relação $[\text{peso(g)}/\text{comprimento(cm)}^3] \times 100$, classificando-se os recém-nascidos em assimétricos, quando o IP foi $< 2,51$, ou simétricos quando o IP foi $\geq 2,51$ ⁹⁶.

Apgar no primeiro minuto

O Apgar é um teste efetuado pelo pediatra imediatamente após o parto e que avalia as condições de vitalidade do recém-nascido considerando cinco sinais objetivos: aparência (cor); pulso (frequência cardíaca); careta (irritabilidade reflexa); atividade (tônus muscular); e respiração⁹⁷. O ideal é que o recém-nascido obtenha uma soma igual ou superior a 7 pontos.

3.4 Análise genotípica

Uma gota de sangue provindo do cordão umbilical do recém-nascido foi transferida para um cartão FTA Clone Saver® (Whatman), impregnado por reagentes que conservam o material genético. Após a transferência da gota de sangue, o cartão foi armazenado em dessecador, livre de umidade, para posterior análise no Laboratório de Biologia Molecular da Univille.

Para a extração do DNA genômico humano no cartão Whatman FTA® foram adotados e adaptados os procedimentos de Kline⁹⁸. Uma pequena fração da área do cartão (diâmetro 1,2 mm) foi removida com auxílio de um perfurador (*micropunch*) previamente limpo e seco, e transferido para um microtubo de 500 µL. Cada microtubo recebeu, primeiramente, 200 µL do tampão “FTA purification Reagent” passando pelo seguinte ciclo: 1ª agitação, 1 à 2 segundos em agitador de tubos Vortex-Genie®2; 1ª incubação, a temperatura ambiente por 2,5 minutos; 2ª agitação e 2ª incubação, repetiu-se os procedimentos da 1ª agitação e incubação. Este ciclo foi repetido por mais duas vezes. A cada final de ciclo o tampão era removido e desprezado, com auxílio de uma micropipeta.

Em seguida, repetiu-se os processos por mais três ciclos, porém utilizando 200 µL de tampão Tris-EDTA (TE), constituído de 10mM Tris-HCl, 1mM EDTA em pH 8,0, O processo de extração foi finalizado após secagem do DNA a temperatura de 60°C por 30 min (Tabela 2).

Tabela 2 - Resumo dos procedimentos adotados para a extração de DNA

	Ciclo	Procedimento	Observações
Tampão "FTA purification reagent" (200 µL)	Ciclo 1	1ª agitação	1-2 s – Vortex-Genie®2
		1ª incubação	2,5 min – temperatura ambiente
		2ª agitação	1-2 s – Vortex-Genie®2
		2ª incubação	2,5 min – temperatura ambiente
	Remoção do tampão		
	Ciclo 2	Idem Ciclo 1	Idem Ciclo 1
	Remoção do tampão		
	Ciclo 3	Idem Ciclo 1	Idem Ciclo 1
	Remoção do tampão		
	Tampão Tris-EDTA (200 µL)	Ciclo 1	1ª agitação
1ª incubação			2,5 min – temperatura ambiente
2ª agitação			1-2 s – Vortex-Genie®2
2ª incubação			2,5 min – temperatura ambiente
Remoção do tampão			
Ciclo 2		Idem Ciclo 1	Idem Ciclo 1
Remoção do tampão			
Ciclo 3		Idem Ciclo 1	Idem Ciclo 1
Remoção do tampão			
Secagem		30 min – 60°C	

Fonte: da autora

Quando confirmada a amplificação, através da presença de fragmentos de 250 pb, do controle positivo e das amostras, os *amplicons* foram submetidos ao processo de digestão enzimática (RFLP). Para cada amostra adicionou-se 10 µL de *amplicons*, 7 µL de água estéril, 2 µL de Buffer Tango (Thermo Scientific) e 10U de enzima *SmaI* (Thermo Scientific), e manteve-se à temperatura de 25 °C em banho-maria por 2 h. Dessa forma, os *amplicons* eram submetidos à digestão pela *SmaI* que possui um sítio de reconhecimento 5'-CCC^AGGG-3' que permite a discriminação alélica C/G.

Após a digestão dos *amplicons*, os produtos da RFLP foram adicionados a 3 µL de tampão de aplicação (0,05% Azul de Bromofenol, 0,05% Xileno Cianol, 40% Glicerol) e submetidos à eletroforese submersa em gel de agarose a 1,5% e tampão Tris/Borato/EDTA (TBE), por 1 h e 30 min a 100V, seguido de exposição à luz UV e digitalização. Os padrões de fragmentos obtidos foram comparados a um padrão de tamanhos de bases disponível comercialmente (100bp Ladder, Fermentas), analisando-se o perfil de restrição correspondente ao: (1) genótipo homocigoto selvagem *TT*: 250 pb (não digerido), (2) genótipo heterocigoto *TG*: 250 pb, 164 pb e 86 pb, e (3) genótipo homocigoto mutante *GG*: 164 pb e 86 pb.

3.4.2 Análise do polimorfismo rs7799039 do gene *LEP*

Para as genotipagens do SNP rs7799039 foram realizadas as mesmas técnicas adotadas para o polimorfismo do gene *ADIPOQ*, porém utilizando os iniciadores: *forward* (5'-CTTTTGT TTTTGT TTTTGC GACAGGGGTGC-3'), e *reverse* (5'-GCTCCCTTTGCCCGACCCCG-3')²⁵ e a enzima de restrição *Alw44I* (Thermo Scientific)²⁵.

Os valores definidos para a termociclagem foram: 94°C durante 3 min para a desnaturação inicial, 30 ciclos a 94° C por 30 s e 70°C por 90 s para amplificação. Em seguida procedeu-se a extensão final de 72°C durante 10 min.

A amplificação era confirmada através da eletroforese em gel agarose pela presença de produtos com 427 pb. Para a digestão enzimática (RFLP) foi utilizada a quantidade de 10 U da enzima *A/w44I* (Thermo Scientific) na solução de digestão, e incubado em banho-maria à temperatura de 37 °C por 2 h. A enzima *A/w44I* possui um sítio de reconhecimento 5'-G[^]TGCAC-3' que permite a discriminação alélica A/G, gerando um perfil de restrição correspondente ao: (1) genótipo homocigoto selvagem GG: 332 pb e 95 pb, (2) genótipo heterocigoto AG: 332 pb, 307 pb, 95 pb e 25 pb, (3) genótipo homocigoto mutante AA: 307 pb e 25 pb.

3.4.3 Análise do polimorfismo rs9939609 do gene *FTO*

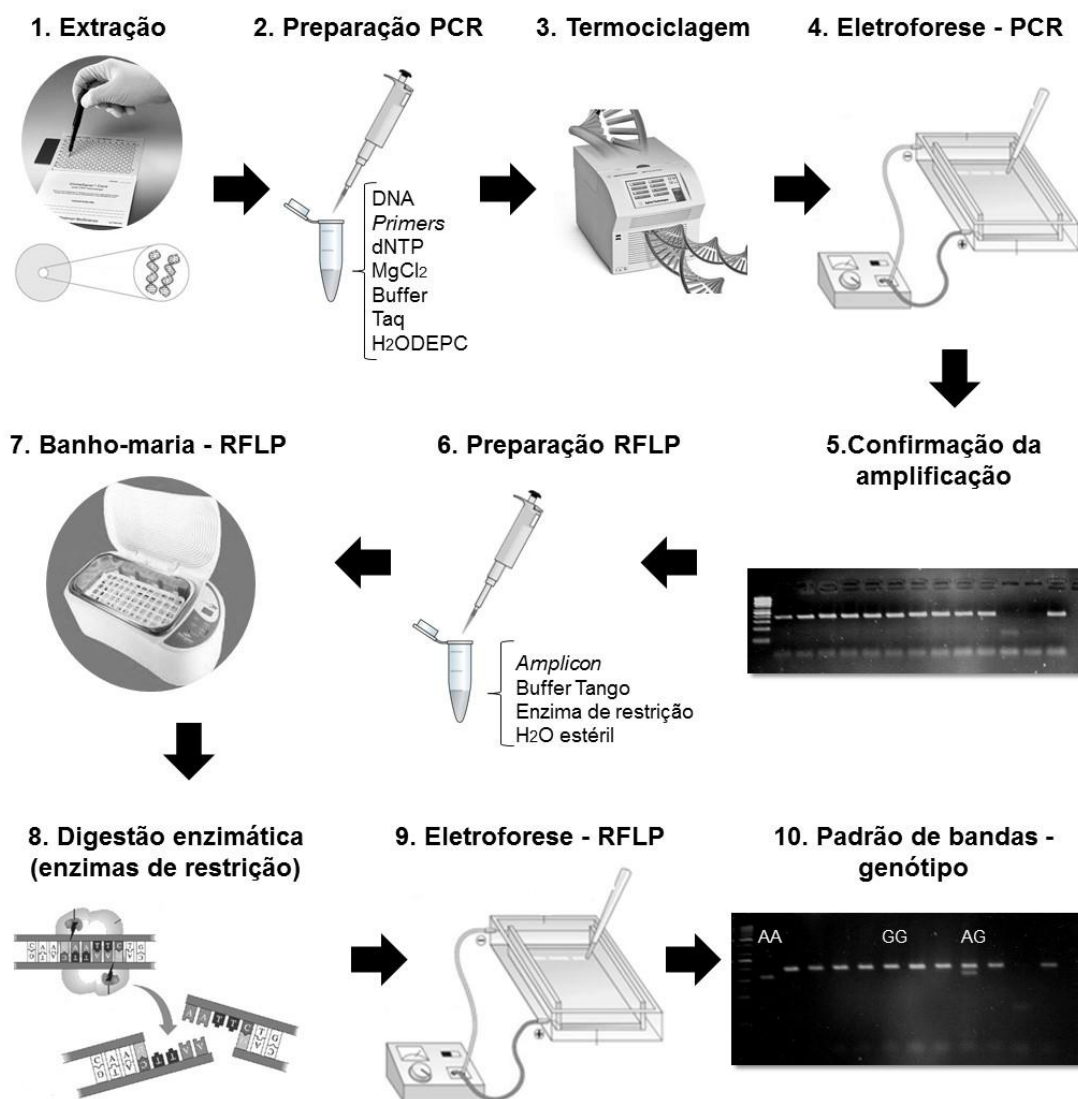
As genotipagens para o polimorfismo rs9939609 do gene *FTO* foram realizadas através das mesmas técnicas adotadas para o polimorfismo do gene *ADIPOQ*, entretanto foram utilizados os iniciadores: *forward* (5'-AACTGGCTCTTGAATGAAATAGGATTCAGA-3'), *reverse* (5'-AGAGTAACAGAGACTATCCAAGTGCAGTAC-3')⁹⁹, e a enzima *Scal* (Thermo Scientific)⁹⁹.

Os valores definidos para a termociclagem foram: 94°C durante 5 min para a pré-desnaturação, 20 ciclos de 94°C por 45 s, 61°C por 45 s (queda de 0,5°C/seg) e 72 °C por 45 s, seguida de 15 ciclos de 94°C durante 45 s para o anelamento, 51°C por 45 s, e 72°C por 45 s, e por fim, a extensão final de 72°C durante 10 min.

A amplificação foi confirmada através da eletroforese em gel agarose pela presença de fragmentos com 182 pb. Para a digestão enzimática (RFLP) foi utilizada a concentração de 10 U da enzima *Scal* (Thermo Scientific) na solução de digestão, incubado em banho-maria à temperatura de 37 °C por 2 h. A enzima *Scal* possui um sítio de reconhecimento 5'-AGT^AACT-3' que permite a discriminação alélica T/A, gerando um perfil de restrição correspondente ao: (1) genótipo homocigoto selvagem *TT*: 182 pb, (2) genótipo heterocigoto *TA*: 182 pb, 154 pb e 28 pb, (3) genótipo homocigoto mutante *AA*: 154 pb e 28 pb ⁹⁹. Para a eletroforese dos produtos da digestão utilizou-se a concentração de 3% de agarose.

O resumo das técnicas adotadas para a genotipagem dos três polimorfismos é demonstrado na Figura 5.

Figura 5 – Técnicas adotadas para análise genotípica dos polimorfismos dos genes *ADIPOQ*, *LEP* e *FTO*



Fonte: da autora

3.5 Processamento dos dados e análise estatística

Os dados foram armazenados em banco de dados criado no programa Excel da Microsoft® Office 2003, e analisados no programa SPSS versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). A análise estatística detalhada está descrita no item *Material and Methods* do apêndice B.

3.6 Aspecto ético

O desenvolvimento do estudo seguiu os requisitos da Resolução 466/12 (antiga 196/96) do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde¹⁰⁰, que regulamenta pesquisas envolvendo seres humanos. Após apresentar à parturiente os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa, quando houve a concordância tanto para ela quanto para seu filho de participarem do estudo, a mesma assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice A) em duas vias, sendo uma de posse da parturiente e outra da equipe. A coleta do material biológico foi realizada obedecendo-se às normas de biossegurança, as informações geradas ficarão sob responsabilidade do coordenador do estudo e serão utilizadas apenas para produção científica. Qualquer forma de divulgação científica será realizada sem a identificação dos participantes. Este estudo foi aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVILLE, ofício nº 107/2011.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme as normas do Programa de Pós Graduação em Saúde e Meio Ambiente da UNIVILLE, este capítulo está apresentado no formato de artigo científico, o qual já foi submetido para publicação ao periódico “*American Journal of Human Biology*”. A confirmação da submissão encontra-se no Apêndice B.

TITLE PAGE

Title: Association of *ADIPOQ*, *LEP* and *FTO* Genes Polymorphisms with Large for Gestational Age Newborns: results from a cross-sectional study

Author's name: Caroline Kroll¹; Silmara S B S Mastroeni^{2,3}; Paul J Veugelers²; Marco F Mastroeni^{1,2,4}

¹Post-graduation Program in Health and Environment, University of Joinville Region, Joinville, Santa Catarina, Brazil, postal code 89.219-710

²Population Health Intervention Research Unit, School of Public Health, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada, postal code T6G 2T4

³Department of Physical Education, University of Joinville Region, Joinville, Santa Catarina, Brazil, postal code 89.219-710

⁴Department of Biological Sciences, University of Joinville Region Joinville, Santa Catarina, Brazil, postal code 89.219-710

Number of text pages: 13

Number of tables: 3

Abbreviated title: *ADIPOQ*, *LEP*, *FTO* polymorphisms and weight status

Corresponding author:

Caroline Kroll

University of Joinville Region - Univille

Post-Graduation Program in Health and Environment

Rua Paulo Malschitzki, 10. Joinville, Santa Catarina, Brazil. Postal Code: 89.219-710

Tel: +55 47 3461-9209

E-mail: carol-kroll@hotmail.com

Grant sponsorship: This study was supported by research grants from the University of Joinville Region. Contract grant number: 4555/2011

ABSTRACT

Objective: The main objective was to evaluate the association of *ADIPOQ* rs2241766, *LEP* rs7799039 and *FTO* rs9939609 polymorphisms with weight status of Brazilian newborns.

Methods: This is a cross-sectional study conducted in a public maternity hospital in the city of Joinville/SC, Brazil. We included large for gestational age (LGA) newborns (n = 105) and the same number of small for gestational age (SGA)/adequate for gestational age (AGA) newborns. Genotyping of rs2241766, rs7799039, and rs9939609 polymorphisms were conducted using PCR-RFLP methods. Logistic regression analysis was used to investigate the association between LGA newborns and the polymorphisms.

Results: Newborns carrying *GG* genotype of rs7799039 polymorphism had 2.12 times more odds of born LGA when compared with *GA+AA* genotypes (95% CI: 1.17-3.83). This result did not change substantially after adjusting for potential confounding variables (OR = 1.98; 95% CI 1.05-3.73), and the interaction among polymorphisms (OR = 1.98; 95% CI 1.05-3.74). Regarding the *ADIPOQ* polymorphism, we found that newborns carrying *TG* or *GG* genotypes had 1.88 more odds of born LGA when compared with infants carrying *TT* genotype, however without statistic significance ($P = 0.082$). No association was found between *FTO* gene polymorphism and newborn weight status.

Conclusions: Our study found that *GG* genotype of *LEP* polymorphism rs7799039 is a risk factor for LGA infants. The exact role and action mechanism of the *GG* genotype of *LEP* gene polymorphism in weight status control remains to be elucidated and more studies are needed.

Key words: polymorphisms, *ADIPOQ*, *LEP*, *FTO*, weight status.

INTRODUCTION

Obesity is a complex chronic disease and its global prevalence has more than doubled between 1980 and 2014 (World Health Organization, 2015). Among children under the age of five, 42 millions were overweight or obese (World Health Organization, 2015). According to the World Health Organization (WHO), childhood obesity is one of the most important public health problems of the 21st century, since it increases the probability of obese children

becoming obese adults and develop noncommunicable diseases, at an early age (World Health Organization, 2000).

Many genes have been associated with obesity in adults (Rankinen et al., 2006), and about 50% of weight and length variation at birth can also be explained by genetic components (Lunde et al., 2007). Adiponectin (*ADIPOQ*), leptin (*LEP*), and fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene polymorphisms have been highlighted because they are associated with overweight, obesity, and variations in anthropometric and biochemical measurements (Frayling et al., 2007; Hinuy et al., 2008; Li et al., 2012).

Adiponectin is a protein secreted by adipocytes and present in an inversely proportional concentration in relation to the quantity of fat tissue (Arita et al., 1999; Scherer et al., 1995). Previous studies conducted in adults demonstrated that the rs2241766 polymorphism of the *ADIPOQ* gene is associated with body weight changes (Menzaghi et al., 2002; Stumvoll et al., 2002). Leptin, in turn, is a hormone whose role is to provide signs to the central nervous system about consumption and storage of corporal energy (Considine, 2005). The rs7799039 polymorphism of the *LEP* gene has been associated with variation in serum leptin and body mass index (BMI) in adults (Mammes et al., 2000). Although the *FTO* gene function is not completely understood, some authors suggest that rs9939609 polymorphism of the *FTO* gene is also associated with increasing weight and BMI in adults (Dina et al., 2007; Frayling et al., 2007). However, to the best of our knowledge, we did not find studies evaluating the influence of the polymorphisms as mentioned earlier on weight status of newborns.

The main objective of our cross-sectional study was to evaluate the effect of *ADIPOQ* (rs2241766), *LEP* (rs7799039) and *FTO* (rs9939609) gene polymorphisms on the weight status of newborns.

MATERIAL AND METHODS

Study design and population

This is a cross-sectional study. All women attended in a public maternity in the city of Joinville/SC – Brazil, between January 14th and February 16th of 2012, over the age of 18 years old, giving birth to a full-term singleton (between 37 and 42 weeks of gestation) were asked to participate in this study. An in-depth description of the overall study was previously published (Sales et al., 2015). We excluded neonates with any anomalies interfering with their weight and height measurement, or who were adopted immediately after delivery. Mothers with preeclampsia and/or diagnosed with toxoplasmosis, human immunodeficiency virus infection, syphilis or hepatitis, and who had incomplete data were also excluded.

As previously described, of the 435 mother-infant dyads participating enrolled in 2012, 105 were classified as LGA (> 90th percentile according to age and gender) (Lubchenco et al., 1963), 325 were AGA (10–90th percentile), and 4 were SGA (< 10th percentile). For this study we considered only LGA newborns, and another group of non-LGA, composed by 105 newborns SGA/AGA who were randomly selected from a simple sampling.

Data collection

We collected self-reported information from each mother at the time of delivery as age, education, family income, smoking status prior to pregnancy, number of previous pregnancies and months in-between deliveries. Information on a diagnosis of diabetes mellitus was obtained from the patient's record. Additional details on data collection have been previously described (Sales et al., 2015). Pre-pregnancy BMI [weight (kg)/height (m)] was calculated based on each mother's self-reported pre-pregnancy weight and height, being classified according to the WHO BMI cut-off recommendations (World Health Organization, 1998).

Gestational weight gain (GWG) was calculated by subtracting pre-pregnancy weight from weight at delivery, the latter being measured on the day of delivery. GWG validity was assessed according to the 2009 Institute of Medicine (IOM) recommendations (Rasmussen and Yaktine, 2009).

Newborn data including weight, height, delivery type and sex were collected from the hospital records. Ponderal Index Rohrer (PI) was calculated through the equation $[\text{weight}(\text{g})/\text{length}(\text{cm})] \times 100$, newborns being classified as asymmetric if the PI was < 2.51 , and symmetric when the PI was ≥ 2.51 (Miller and Hassanein, 1973). Apgar index in the first minute was considered normal when scores were equal or greater than 7 points.

The study was approved by the Research Ethics Committee of the Univille University, n° 107/2011.

Genotyping analysis

An umbilical cord blood droplet from the newborn was transferred to an FTA Clone Saver[®] card (Whatman[®] BioScience, USA), which was impregnated with preservative reagents of genetic material and stored in a desiccator, without humidity, for posterior analysis.

Genomic DNA was extracted from FTA cards using the method described by Kline (2002). The rs2241766 (*ADIPOQ*), rs7799039 (*LEP*) and rs9939609 (*FTO*) polymorphisms were analyzed by Polymerase Chain Reaction (PCR). DNA was amplified using the following primers: forward: '5-TCTCTCCATGGCTGACAGTG-3' and reverse: '5-CCTTTCTCACCCTTCTCACC-3', for the *ADIPOQ* gene (Menzaghi et al., 2002); forward: '5-CTTTTGTGGTTTGGCGACAGGGGTGC-3' and reverse: '5-GCTCCCTTTGCCCGACCCCG-3', for the *LEP* gene (Hinuy et al., 2008); and forward: 5'-AACTGGCTCTTGAATGAAATAGGATTCAGA-3' and reverse: 5'-

AGAGTAACAGAGACTATCCAAGTGCAGTAC-3', for the *FTO* gene (Lopez-Bermejo et al., 2008).

After amplification, the procedure was followed by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) using restriction enzymes *Sma*I (Fermentas), for the *ADIPOQ* gene polymorphism; *Alw*44I (Fermentas), for the *LEP* gene polymorphism; and *Sca*I (Fermentas), for the *FTO* gene polymorphism.

PCR products and restriction fragments were separated by 2-3% agarose gel electrophoresis at 100 V for 1 hour, stained with ethidium bromide, and submitted under UV light in a trans illuminator and posterior scanning (MiniBIS, DNR BioImaging Systems Ltd., Jerusalem, Israel). Genotype patterns were compared to a 50/100 DNA Ladder (Fermentas), analyzing the corresponding restriction patterns of *ADIPOQ* gene polymorphism (250bp for *T* allele; 164bp and 86 bp for *G* allele), *LEP* gene polymorphism (332bp and 95 bp for *G* allele; 337bp for *A* allele), and *FTO* gene polymorphism (182bp for *T* allele; 154bp and 28 bp for *A* allele).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). The general characteristics of mothers and their children were compared between SGA/AGA and LGA infants, respectively the control and the case groups. Continuous variables were categorized. Categorical variables and the agreement of genotypes frequencies with Hardy-Weinberg equilibrium expectations were tested through chi-square tests.

To investigate the association between LGA newborns and the polymorphisms, the odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CIs) were calculated using logistic regression. Due to the small number for rare alleles, the genotypes GG (*ADIPOQ*), AA (*LEP*) and AA (*FTO*) were combined with those having the heterozygous genotype (TG, GA, and TA for

ADIPOQ, *LEP* and *FTO* genes, respectively). An unadjusted analysis was used to estimate the crude effect of each polymorphism on the LGA newborns (in relation to non-LGA newborns) outcomes. Using forced analysis of the variables in the model, we selected important confounders to adjust the models (age, education, family income, marital status, GWG, smoking before pregnancy, diabetes and sex), in multivariable analysis to reveal the independent polymorphic determinants of LGA newborns. We also tested the polymorphisms' interaction as potential confounders in the effect between the *ADIPOQ*, *LEP* and *FTO* polymorphisms. Analyses were considered statistically significant when $P < 0.05$.

RESULTS

The general characteristics of the mothers and their newborns are described in Table 1. Mothers who had LGA newborns experienced excessive gestational weight gain (58.7%, $P = 0.013$), and had more cesarean section rates (60.0%, $P = 0.023$) when compared to mothers who had no LGA newborns [Table 1 here].

Table 2 presents the genotype and allele frequencies of the investigated newborn polymorphisms. Except for the *FTO* gene polymorphism, the *ADIPOQ* and *LEP* genes polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). Additionally, LGA newborns demonstrated a higher prevalence of *GG* genotype of the *LEP rs7799039* polymorphism when compared with SGA/AGA newborns (46.9% vs. 29.5%, respectively; $P = 0.043$). The major allele frequency of *LEP* gene polymorphisms was also higher in LGA infants ($G: 0.673$) than SGA/AGA ($G: 0.574$). No association was found between weight status and *ADIPOQ* or *FTO* gene polymorphisms [Table 2 here].

Table 3 demonstrates the genetic determinants of LGA newborns. Unadjusted analysis showed that newborns carrying *GG* genotype of *rs7799039* had 2.12 times the risk of being born LGA when compared with infants carrying *GA+AA* genotypes (95% CI: 1.17-3.83).

These results did not change substantially after adjusting for potential confounding variables (OR = 1.98; 95% CI 1.05-3.73). The polymorphisms' interaction adjusted analyses also demonstrated similar results (OR = 1.98; $P < 0.05$). Regarding *ADIPOQ* polymorphism, in all analyses we found that newborns carrying *TG* or *GG* genotypes had 1.88 more odds of born LGA when compared with infants carrying a *TT* genotype, however without statistic significance ($P = 0.082$). No association was found between *FTO* gene polymorphism and newborn weight status [Table 3 here].

DISCUSSION

We found an association between *LEP* polymorphism rs7799039 and weight status in a cross-sectional study of Brazilian newborns. Our results demonstrate that newborns carrying *GG* genotype of rs7799039 polymorphism of *LEP* gene have two times more odds of being born LGA than those with *GA+AA* genotypes, suggesting that *LEP* gene polymorphism might be a weight status predictor. To the best of our knowledge, this is the first study to investigate the association of *LEP*, *ADIPOQ* and *FTO* genes polymorphisms in newborn weight status. From the public health perspective, determine genetic variants that are associated with weight status on the first years of life can potentially contribute to the development strategies to prevent an obesogenic framework early in life.

The frequency of major alleles of *ADIPOQ* (non-LGA *T*: 0.924; LGA *T*: 0.872), and *LEP* (non-LGA *G*: 0.574; LGA *G*: 0.673) genes polymorphisms have been previously reported in other studies (Hinuy et al., 2008; Mackevics et al., 2006). In our study, the frequencies of *FTO* gene polymorphism major allele in LGA (*T*: 0.700), and SGA/AGA (*T*: 0.705) groups were higher than the ones reported by other authors (da Silva et al., 2013; Fawwad et al., 2015). We believe that the small sample size of our study may be the reason for such higher frequencies.

The association between *LEP* gene polymorphism and risk of excess body weight among children and adults has also been previously described by other authors (Boumaiza et al., 2012; Gormus et al., 2014; Hinuy et al., 2008; Mammes et al., 2000; Riestra et al., 2010; Wang et al., 2006). Some studies demonstrated that the *AA* genotype of the rs7799039 polymorphism is associated with an increased risk of obesity and metabolic syndrome (Boumaiza et al., 2012; Gormus et al., 2014). In addition, the *AA* genotype seems to be associated with increased BMI, energy expenditure, waist circumference, serum leptin, insulin and total cholesterol levels (Boumaiza et al., 2012). Nonetheless, the results are still controversial. Some authors have reported that *AA* genotype is associated with decreased BMI, waist circumference, body fat percentage, and serum leptin levels (Riestra et al., 2010), therefore concluding that it is *GG* the genotype associated with obesity, increased BMI and waist circumference (Hinuy et al., 2008; Hinuy et al., 2010; Wang et al., 2006). Our results corroborate with these reports demonstrating that the *GG* genotype of the rs7799039 polymorphism increases up to twice the risk of being born LGA, even after adjusting for potential confounders.

The differences among the results found by other authors can be explained by factors such as sample size, the ethnic background of population or by the interaction of the *LEP* polymorphism with other variants in leptin and/or leptin receptor genes. Two repetitive sequences, *MER11*, and *Alu*, are located in the *LEP* promoter region, which is also located the rs7799039 polymorphism, and these might regulate *LEP* expression (Hinuy et al., 2010; Mammes et al., 2000). The insertion of a *Sp1* functional placental enhancer into the *MER11* is related to the *LEP* expression (Hinuy et al., 2010; Mammes et al., 2000). *LEP* gene is responsible for producing leptin hormone, whose function is promoting the regulation of food intake, body weight, metabolism and reproductive functions (Friedman and Halaas, 1998; Zhang et al., 1994); for these reasons, it could potentially lead to changes in weight status of

newborns. The serum leptin levels increasing are associated with higher weight at birth (Donnelly et al., 2015; Fonseca and Santos, 2015; Hassink et al., 1997; Tsai et al., 2004), and the presence of -2548GG genotype of *LEP* gene polymorphism seems to contribute to this increase (Constantin et al., 2010; Hinuy et al., 2010; Riestra et al., 2010).

ADIPOQ and *FTO* gene polymorphisms have also been related to overweight and obese statuses in adults, adolescents, and children (Frayling et al., 2007; Loos et al., 2007). Some studies have showed that the *GG* genotype of *ADIPOQ* gene polymorphism is associated with obesity, metabolic syndrome and increased body fat (Li et al., 2012; Loos et al., 2007; Wu et al., 2014). A study involving Korean newborns showed that *GG* genotype has a strong association with weight at birth (Kong et al., 2013). Similar results were found with *FTO* gene polymorphism, which has been shown to be associated with anthropometric and biochemical variables, as well as with excess body weight (Dina et al., 2007; Frayling et al., 2007; Gerken et al., 2007; Liu et al., 2010; Reuter et al., 2015; Yang et al., 2014). Some authors have demonstrated that “A” allele of rs9939609 polymorphism of *FTO* gene is associated with greater accumulation of body fat and increase BMI, waist and hip circumference, blood pressure, triglycerides and low-density lipoprotein cholesterol, and a further decrease in high-density lipoprotein cholesterol (Dina et al., 2007; Frayling et al., 2007; Gerken et al., 2007; Liu et al., 2010; Reuter et al., 2015; Yang et al., 2014). However, other studies have demonstrated no association between *FTO* gene polymorphism and weight status (Fawwad et al., 2015; Solak et al., 2014), which is in agreement with the results of our study.

The investigation of three polymorphisms using the same group of subjects and the adjustment for several important confounding factors are important strengths of this study. However, there are some limitations to be considered. First, the small sample size seems to have influenced the results of *ADIPOQ* gene polymorphism, since only three children showed

the mutant GG genotype. Second, the small number of individuals investigated is also the possible reason for the *FTO* gene polymorphism was not in Hardy-Weinberg equilibrium. Lastly, due to the low quality of some blood samples, it was not possible to analyze the *LEP* gene polymorphism data from 17 participants. Although, even under these conditions, we were able to demonstrate the association between rs7799039 *LEP* gene polymorphism and the newborn weight status.

In summary, our study showed the influence of *LEP* gene polymorphism as a risk factor for LGA infants, and a possible later development of excess body weight. More studies are needed to elucidate the exact role and functionality of the GG genotype on the *LEP* gene polymorphism in the weight status. Further research should be conducted with the prospect of evaluating the polymorphisms' effect later in life.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Darcy Vargas Maternity Hospital and the Molecular Biology Laboratory of University of Joinville Region – Univille, of Joinville, Santa Catarina, for allowing data to be collected from their facilities, the University of Joinville Region for their financial support. The *Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES)*–Brazil also supported this work. The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

C.K. participated in data collection, analyzes and writing of the article. P.J.V. analyzed the data and wrote the article. S.S.B.S.M and M.F.M organized and designed the study, participated in data collection, analyses and writing of the article. All authors approved the final version of the paper for publication.

LITERATURE CITED

- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K et al. 1999. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications* 257(1):79-83.
- Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ouedrani A, Ben Rejeb N, Nabli N, Ben Abdelaziz A, Bouslama A. 2012. Relationship between leptin G2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms and obesity and metabolic syndrome risk in Tunisian volunteers. *Genetic testing and molecular biomarkers* 16(7):726-733.
- Brasil. 2010. Ministério da Saúde. Pesquisa de Orçamentos Familiares. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE.
- Considine RV. 2005. Human leptin: an adipocyte hormone with weight-regulatory and endocrine functions. *Seminars in vascular medicine* 5(1):15-24.
- Constantin A, Costache G, Sima AV, Glavce CS, Vladica M, Popov DL. 2010. Leptin G-2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian subjects. *Biochemical and biophysical research communications* 391(1):282-286.
- da Silva CF, Zandona MR, Vitolo MR, Campagnolo PD, Rotta LN, Almeida S, Mattevi VS. 2013. Association between a frequent variant of the FTO gene and anthropometric phenotypes in Brazilian children. *BMC medical genetics* 14:34.
- Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Korner A, Jacobson P, Carlsson LM, Kiess W, Vatin V, Lecoecur C et al. 2007. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nature genetics* 39(6):724-726.
- Donnelly JM, Lindsay KL, Walsh JM, Horan M, Molloy EJ, McAuliffe FM. 2015. Fetal metabolic influences of neonatal anthropometry and adiposity. *BMC pediatrics* 15(1):175.
- Fawwad A, Siddiqui IA, Basit A, Zeeshan NF, Shahid SM, Nawab SN, Siddiqui S. 2015. Common variant within the FTO gene, rs9939609, obesity and type 2 diabetes in population of Karachi, Pakistan. *Diabetes & metabolic syndrome*.
- Fonseca MJ, Santos AC. 2015. Umbilical cord blood adipokines and newborn weight change. *Archives of gynecology and obstetrics* 291(5):1037-1040.
- Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW et al. 2007. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science (New York, NY)* 316(5826):889-894.
- Friedman JM, Halaas JL. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395(6704):763-770.
- Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, Yeo GS, McDonough MA, Cunliffe S, McNeill LA et al. 2007. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science (New York, NY)* 318(5855):1469-1472.
- Gormus U, Timirci Kahraman O, Toptas B, Isbir T, Ciftci C, Berkkan HH, Dalan AB, Karatay MC. 2014. Leptin and leptin receptor polymorphisms are related to body mass index in a Turkish population. *Turkish journal of medical sciences* 44(5):809-813.
- Hassink SG, de Lancey E, Sheslow DV, Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, Considine RV, Opentanova I, Dostal K, Spear ML, Leef K et al. 1997. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics* 100(1):E1.

- Hinuy HM, Hirata MH, Forti N, Diament J, Sampaio MF, Armaganijan D, Salazar LA, Hirata RD. 2008. Leptin G-2548A promoter polymorphism is associated with increased plasma leptin and BMI in Brazilian women. *Archives of Endocrinology and Metabolism* 52(4):611-616.
- Hinuy HM, Hirata MH, Sampaio MF, Armaganijan D, Arazi SS, Salazar LA, Hirata RDC. 2010. Relationship between variants of the leptin gene and obesity and metabolic biomarkers in Brazilian individuals. *Archives of Endocrinology and Metabolism* 54:282-288.
- Kline MC, Duewer DL, Redman JW, Butler JM, Boyer DA. 2002. Polymerase chain reaction amplification of DNA from aged blood stains: quantitative evaluation of the "suitability for purpose" of four filter papers as archival media. *Analytical chemistry* 74(8):1863-1869.
- Kong KA, Suh YJ, Cho SJ, Park EA, Park MH, Kim YJ. 2013. Association of adiponectin gene polymorphism with birth weight in Korean neonates. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies* 16(3):732-738.
- Li X, Wei D, He H, Zhang J, Wang C, Ma M, Wang B, Yu T, Pan L, Xue F et al. 2012. Association of the adiponectin gene (ADIPOQ) +45 T > G polymorphism with the metabolic syndrome among Han Chinese in Sichuan province of China. *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 21(2):296-301.
- Liu G, Zhu H, Lagou V, Gutin B, Stallmann-Jorgensen IS, Treiber FA, Dong Y, Snieder H. 2010. FTO variant rs9939609 is associated with body mass index and waist circumference, but not with energy intake or physical activity in European- and African-American youth. *BMC medical genetics* 11:57.
- Loos RJ, Ruchat S, Rankinen T, Tremblay A, Perusse L, Bouchard C. 2007. Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *The American journal of clinical nutrition* 85(1):26-34.
- Lopez-Bermejo A, Petry CJ, Diaz M, Sebastiani G, de Zegher F, Dunger DB, Ibanez L. 2008. The association between the FTO gene and fat mass in humans develops by the postnatal age of two weeks. *J Clin Endocrinol Metab* 93(4):1501-1505.
- Lubchenco LO, Hansman C, Dressler M, Boyd E. 1963. Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight data at 24 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics* 32:793-800.
- Lunde A, Melve KK, Gjessing HK, Skjaerven R, Irgens LM. 2007. Genetic and environmental influences on birth weight, birth length, head circumference, and gestational age by use of population-based parent-offspring data. *American journal of epidemiology* 165(7):734-741.
- Mackevics V, Heid IM, Wagner SA, Cip P, Doppelmayr H, Lejnieks A, Gohlke H, Ladurner G, Illig T, Iglseder B et al. 2006. The adiponectin gene is associated with adiponectin levels but not with characteristics of the insulin resistance syndrome in healthy Caucasians. *European journal of human genetics : EJHG* 14(3):349-356.
- Mammes O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. 2000. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Annals of human genetics* 64(Pt 5):391-394.
- Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V, Doria A. 2002. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 51(7):2306-2312.
- Miller HC, Hassanein K. 1973. Fetal malnutrition in white newborn infants: maternal factors. *Pediatrics* 52(4):504-512.

- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Perusse L, Bouchard C. 2006. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring, Md)* 14(4):529-644.
- Rasmussen KM, Yaktine A. 2009. Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines.
- Reuter CP, Rosane De Moura Valim A, Gaya AR, Borges TS, Klinger EI, Possuelo LG, Franke SI, Kmetzsch L, Vainstein MH, Pra D et al. 2015. FTO polymorphism, cardiorespiratory fitness, and obesity in Brazilian youth. *American journal of human biology*.
- Riestra P, Garcia-Anguita A, Viturro E, Schoppen S, de Oya M, Garces C. 2010. Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents. *Annals of human genetics* 74(4):335-339.
- Sales WB, Silleno Junior JD, Kroll C, Mastroeni SSBS, Silva JC, Mastroeni MF. 2015. Influence of altered maternal lipid profile on the lipid profile of the newborn. *Archives of Endocrinology and Metabolism* 59:123-128.
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. 1995. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry* 270(45):26746-26749.
- Solak M, Ozdemir Erdogan M, Yildiz SH, Ucok K, Yuksel S, Arikan Terzi ES, Bestepe A. 2014. Association of obesity with rs1421085 and rs9939609 polymorphisms of FTO gene. *Molecular biology reports*.
- Stumvoll M, Tschritter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F, Häring H. 2002. Association of the TG Polymorphism in adiponectin (Exon 2) with obesity and insulin sensitivity interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* 51(1):37-41.
- Tsai PJ, Yu CH, Hsu SP, Lee YH, Chiou CH, Hsu YW, Ho SC, Chu CH. 2004. Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. *Clinical endocrinology* 61(1):88-93.
- Wang TN, Huang MC, Chang WT, Ko AM, Tsai EM, Liu CS, Lee CH, Ko YC. 2006. G-2548A polymorphism of the leptin gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity (Silver Spring, Md)* 14(2):183-187.
- World Health Organization. 1998. Obesity: preventing and managing the global epidemic; Report as a WHO Consultation of Obesity. Geneva.
- World Health Organization. 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organization. Report nr 0512-3054 (Print); 0512-3054 (Linking). p. 894.
- World Health Organization. 2015. Obesity and overweight. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
- Wu J, Liu Z, Meng K, Zhang L. 2014. Association of adiponectin gene (ADIPOQ) rs2241766 polymorphism with obesity in adults: a meta-analysis. *PloS one* 9(4):e95270.
- Yang M, Xu Y, Liang L, Fu J, Xiong F, Liu G, Gong C, Luo F, Chen S, Xu C et al. 2014. The Effects of Genetic Variation in FTO rs9939609 on Obesity and Dietary Preferences in Chinese Han Children and Adolescents. *PloS one* 9(8):e104574.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372(6505):425-432.

TABLE 1. Characteristics of mothers and their children by weight status of children

Characteristics	Weight status			P
	SGA/AGA n (%)	LGA n (%)	Total n (%)	
<i>Mothers</i>				
Age (years)				0.496
20 – 30	60 (51.7)	56 (48.3)	116 (55.2)	
< 20	12 (40.0)	18 (60.0)	30 (14.3)	
≥ 30	33 (51.6)	31 (48.4)	64 (30.5)	
Education (years)				0.285
≥ 12	16 (59.3)	11 (40.7)	27 (12.8)	
9 – 12	52 (45.2)	63 (54.8)	115 (54.8)	
< 9	37 (54.4)	31 (45.6)	68 (32.4)	
Family income (MS) ^a				0.447
≥ 3	63 (48.5)	67 (51.5)	130 (63.1)	
< 3	41 (53.9)	35 (46.1)	76 (36.9)	
Marital status				0.173
Marriage/Consensual union	86 (48.0)	93 (52.0)	179 (85.2)	
Others	19 (61.3)	12 (38.7)	31 (14.8)	
Pregnancies				0.642
1	32 (49.2)	33 (50.8)	65 (30.9)	
2	35 (54.7)	29 (45.3)	64 (30.5)	
≥ 3	38 (46.9)	43 (53.1)	81 (38.6)	
Delivery time interval (months) ^b				0.459
< 48	29 (52.7)	26 (47.3)	55 (40.7)	
≥ 48	37 (46.3)	43 (53.8)	80 (59.3)	
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)				0.677
< 25	56 (48.7)	59 (51.3)	115 (54.8)	
≥ 25	49 (51.6)	46 (48.4)	95 (45.2)	
Gestational weight gain				0.013
Adequate	62 (58.5)	44 (41.5)	106 (50.5)	
Excessive	43 (41.3)	61 (58.7)	104 (49.5)	
Smoking before pregnancy				0.079
No	80 (47.1)	90 (52.9)	170 (81.0)	
Yes	25 (62.5)	15 (37.5)	40 (19.0)	
Diabetes				0.580
No	99 (50.5)	97 (49.5)	196 (93.3)	
Yes	6 (42.9)	8 (57.1)	14 (6.7)	
<i>Children</i>				
Sex				0.269
Male	47 (46.1)	55 (53.9)	102 (48.6)	
Female	58 (53.7)	50 (46.3)	108 (51.4)	
Type of delivery				0.023
Normal	73 (56.2)	57 (43.8)	130 (61.9)	
Cesarean section	32 (40.0)	48 (60.0)	80 (38.1)	
Rohrer's ponderal index				0.055
≥ 2.51	99 (48.8)	104 (51.2)	203 (96.7)	
< 2.51	6 (85.7)	1 (14.3)	7 (3.3)	
Apgar first minute				0.638
≥ 7	96 (50.5)	94 (49.5)	190 (90.5)	
< 7	9 (45.0)	11 (55.0)	20 (9.5)	

SGA, small for gestational age; AGA, adequate for gestational age; LGA, large for gestational age; MS, minimum salary \$305.60USD; BMI, body mass index.

^an = 206

^bn = 135

TABLE 2. Genotype frequencies of the ADIPOQ, LEP and FTO polymorphisms and major allele frequencies by weight status.

Characteristics	Weight status			P	Major allele			
	SGA/AGA	LGA	Total		SGA/AGA		LGA	
	n (%)	n (%)	n (%)		Frequency	HWE P value	Frequency	HWE P value
<i>ADIPOQ</i> rs2241766				0.211	0.924	0.588	0.872	0.818
TT	90 (85.7)	80 (76.2)	170 (81.0)					
TG	14 (13.3)	23 (21.9)	37 (17.6)					
GG	1 (1.0)	2 (1.9)	3 (1.4)					
<i>LEP</i> rs7799039				0.043	0.574	0.171	0.673	0.476
GG	28 (29.5)	46 (46.9)	74 (38.3)					
GA	53 (55.8)	40 (40.8)	93 (48.2)					
AA	14 (14.7)	12 (12.2)	26 (13.5)					
<i>FTO</i> rs9939609				0.357	0.705	<0.001	0.700	0.011
TT	44 (41.9)	46 (43.8)	90 (42.8)					
TA	60 (57.1)	55 (52.4)	115 (54.8)					
AA	1 (1.0)	4 (3.8)	5 (2.4)					

SGA, small for gestational age; AGA, adequate for gestational age; LGA, large for gestational age; HWE, Hardy-Weinberg Equilibrium.

TABLE 3. Risk for large for gestational age newborns and associated polymorphisms. Joinville, Brazil, 2012

Characteristics	Unadjusted analysis		Adjusted analysis ^a		Polymorphisms' interaction adjusted analysis ^a	
	Odds ratio (95% CI)	P	Odds ratio (95% CI)	P	Odds ratio (95% CI)	P
<i>ADIPOQ</i> rs2241766						
TT	1.00 (ref)		1.00 (ref)		1.00 (ref)	
TG + GG	1.88 (0.92-3.80)	0.082	1.90 (0.89-4.03)	0.096	2.01 (0.90-4.47)	0.087
<i>LEP</i> rs7799039						
GA + AA	1.00 (ref)		1.00 (ref)		1.00 (ref)	
GG	2.12 (1.17-3.83)	0.013	1.98 (1.05-3.73)	0.034	1.98 (1.05-3.74)	0.036
<i>FTO</i> rs9939609						
TT	1.00 (ref)		1.00 (ref)		1.00 (ref)	
TA + AA	0.93 (0.54-1.60)	0.780	0.99 (0.55-1.77)	0.962	1.11 (0.59-2.11)	0.744

CI, confidence interval.

^aAdjusted for age, education, family income, marital status, gestational weight gain, smoking before pregnancy, presence of diabetes and sex.

5 CONCLUSÃO

Nosso estudo revelou que recém-nascidos com o genótipo *GG* para o polimorfismo rs7799039 do gene *LEP* apresentaram 2,12 mais chances de nascerem GIG quando comparadas aos recém-nascidos com os genótipos *GA+AA*. Os resultados não sofreram diferenças substanciais depois de ajustados para outras covariáveis. Portanto a presença do genótipo *GG* do polimorfismo *LEP* rs7799039 pode ser considerado um fator de risco para o nascimento de recém-nascidos GIG. Os polimorfismos dos genes *ADIPOQ* e *FTO* não foram associados ao estado nutricional dos recém-nascidos.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Obesity and overweight 2015. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acesso em: 18 aug 2015.
2. World Health Organization, WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: 1998.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE.2010.
4. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organization, 2000 0512-3054 (Print); 0512-3054 (Linking).
5. Luiz AMAG, Gorayeb R, Liberatore Júnior RDR, Domingos NAM. Depressão, ansiedade, competência social e problemas comportamentais em crianças obesas. Estudos de Psicologia (Natal). 2005;10:371-5.
6. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. British medical bulletin. 2001;60:5-20.
7. Soares LD, Petroski EL. Prevalência, fatores etiológicos e tratamento da obesidade infantil. Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano. 2003;5(1):63-74.
8. da Silveira Araújo ED. Estado nutricional e adiposidade de escolares de 7 a 14 anos das cidades de Florianópolis/SC e Pelotas/RS. 2001. 2001;3(1).
9. Mutch DM, Clement K. Unraveling the genetics of human obesity. PLoS genetics. 2006;2(12):e188.
10. Dina C, Meyre D, Gallina S, Durand E, Korner A, Jacobson P, et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. Nature genetics. 2007;39(6):724-6.
11. Haworth CM, Carnell S, Meaburn EL, Davis OS, Plomin R, Wardle J. Increasing heritability of BMI and stronger associations with the FTO gene over childhood. Obesity (Silver Spring, Md). 2008;16(12):2663-8.

12. Yang M, Xu Y, Liang L, Fu J, Xiong F, Liu G, et al. The Effects of Genetic Variation in FTO rs9939609 on Obesity and Dietary Preferences in Chinese Han Children and Adolescents. *PloS one*. 2014;9(8):e104574.
13. Gormus U, Timirci Kahraman O, Toptas B, Isbir T, Ciftci C, Berkkan HH, et al. Leptin and leptin receptor polymorphisms are related to body mass index in a Turkish population. *Turkish journal of medical sciences*. 2014;44(5):809-13.
14. Mammes O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Annals of human genetics*. 2000;64(Pt 5):391-4.
15. Riestra P, Garcia-Anguaita A, Viturro E, Schoppen S, de Oya M, Garces C. Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents. *Annals of human genetics*. 2010;74(4):335-9.
16. Zhang L, Yuan LH, Xiao Y, Lu MY, Zhang LJ, Wang Y. Association of leptin gene -2548 G/A polymorphism with obesity: a meta-analysis. *Annals of nutrition & metabolism*. 2014;64(2):127-36.
17. Wu J, Liu Z, Meng K, Zhang L. Association of adiponectin gene (ADIPOQ) rs2241766 polymorphism with obesity in adults: a meta-analysis. *PloS one*. 2014;9(4):e95270.
18. Xia Q, Grant SFA. The genetics of human obesity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013;1281(1):178-90.
19. Ukkola O, Bouchard C. Fatores genéticos e obesidade infantil. *Anais Nestlé: Obesidade na Infância*. 2002;62:12-20.
20. Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Ouedrani A, Ben Rejeb N, et al. Relationship between leptin G2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms and obesity and metabolic syndrome risk in Tunisian volunteers. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2012;16(7):726-33.
21. Marques-Lopes I, Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Martínez A. Aspectos genéticos da obesidade. *Revista de Nutrição*. 2004;17:327-38.
22. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2006;14(4):529-644.

23. Bueno AC, Espiñeira AR, Fernandes-Rosa FL, de Souza RM, de Castro M, Moreira AC, et al. Adiponectin: serum levels, promoter polymorphism, and associations with birth size and cardiometabolic outcome in young adults born large for gestational age. *European Journal of Endocrinology*. 2010;162(1):53-60.
24. Kong KA, Suh YJ, Cho SJ, Park EA, Park MH, Kim YJ. Association of adiponectin gene polymorphism with birth weight in Korean neonates. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies*. 2013;16(3):732-8.
25. Hinuy HM, Hirata MH, Forti N, Diament J, Sampaio MF, Armaganijan D, et al. Leptin G-2548A promoter polymorphism is associated with increased plasma leptin and BMI in Brazilian women. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2008;52(4):611-6.
26. Hinuy HM, Hirata MH, Sampaio MF, Armaganijan D, Arazi SS, Salazar LA, et al. Relationship between variants of the leptin gene and obesity and metabolic biomarkers in Brazilian individuals. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2010;54:282-8.
27. Wang TN, Huang MC, Chang WT, Ko AM, Tsai EM, Liu CS, et al. G-2548A polymorphism of the leptin gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2006;14(2):183-7.
28. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science (New York, NY)*. 2007;316(5826):889-94.
29. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, Albai G, Strait J, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS genetics*. 2007;3(7):e115.
30. Solak M, Ozdemir Erdogan M, Yildiz SH, Ucok K, Yuksel S, Arikan Terzi ES, et al. Association of obesity with rs1421085 and rs9939609 polymorphisms of FTO gene. *Molecular biology reports*. 2014.
31. Rizzatti V, Boschi F, Pedrotti M, Zoico E, Sbarbati A, Zamboni M. Lipid droplets characterization in adipocyte differentiated 3T3-L1 cells: size and optical density distribution. *European journal of histochemistry : EJH*. 2013;57(3):e24.

32. Sociedade Brasileira de Cardiologia SBC. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. Arquivo Brasileiro de Cardiologia. 2005;85(6):3-36.
33. Batista Filho M, Rissin A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. Cadernos de Saúde Pública. 2003;19:S181-S91.
34. Lobato JCP, Arimatea JE, Santos LSd, Costa AJL, Cavalcanti MdLT, Szklo M, et al. Transição Nutricional: uma revisão sob a ótica da programação fetal. XVII Encontro Nacional de Estudos Populacionais; Caxambu, MG - Brasil: Instituto de Estudos em Saúde Coletiva/UFRJ; 2010. p. 1-15.
35. Abrantes MM, Lamounier JA, Colosimo EA. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões Sudeste e Nordeste. Jornal de Pediatria. 2002;78:335-40.
36. Monteiro POA, Victora CG, Barros FC, Monteiro LMA. Birth size, early childhood growth, and adolescent obesity in a Brazilian birth cohort. International Journal of Obesity. 2003;27:1274-82.
37. Gurnani M, Birken C, Hamilton J. Childhood Obesity: Causes, Consequences, and Management. Pediatric clinics of North America. 2015;62(4):821-40.
38. Gillman MW, Rifas-Shiman S, Berkey CS, Field AE, Colditz GA. Maternal gestational diabetes, birth weight, and adolescent obesity. Pediatrics. 2003;111(3):e221-6.
39. Sorensen HT, Sabroe S, Rothman KJ, Gillman M, Fischer P, Sorensen TI. Relation between weight and length at birth and body mass index in young adulthood: cohort study. BMJ : British Medical Journal. 1997;315(7116):1137-.
40. Pribylova H, Dvorakova L. Long-term prognosis of infants of diabetic mothers. Relationship between metabolic disorders in newborns and adult offspring. Acta diabetologica. 1996;33(1):30-4.
41. Rudge MVC. Avaliação do peso dos recém-nascidos: o que é normal ou anormal. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. 2005;27(6):299-300.
42. Barker DJ, Martyn CN, Osmond C, Wield GA. Abnormal liver growth in utero and death from coronary heart disease. BMJ (Clinical research ed). 1995;310(6981):703-4.

43. Valero De Bernabe J, Soriano T, Albaladejo R, Juarranz M, Calle ME, Martinez D, et al. Risk factors for low birth weight: a review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2004;116(1):3-15.
44. Lubchenco LO, Hansman C, Dressler M, Boyd E. Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight data at 24 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics*. 1963;32:793-800.
45. T-HOD Database. Text-mined Hypertension, Obesity, and Diabetes Candidate Gene Database [Internet]. Acesso em: 29 jul 2015.
46. Johnston LB, Clark AJ, Savage MO. Genetic factors contributing to birth weight. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2002;86(1):F2-3.
47. Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Plomin R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;87(2):398-404.
48. Pimentel M, Santos-Rebouças C, Gallo C. *Genética essencial*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.
49. National Center for Biotechnology Information NCBI. NCBI databases: ADIPOQ [Internet]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9370>. Acesso em: 02 set 2015.
50. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1999;257(1):79-83.
51. Saito K, Tobe T, Minoshima S, Asakawa S, Sumiya J, Yoda M, et al. Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene*. 1999;229(1-2):67-73.
52. Genetics Home Reference. ADIPOQ. [Internet]. Disponível em: <http://ghr.nlm.nih.gov/dynamicimages/chromomap/ADIPOQ.jpeg>. Acesso em: 22 ago 2015.
53. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *The Journal of biological chemistry*. 1996;271(18):10697-703.

54. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry*. 1995;270(45):26746-9.
55. Guimarães DED, Sardinha FLdC, Mizurini DdM, Carmo MdGTd. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. *Revista de Nutrição*. 2007;20:549-59.
56. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100(25):2473-6.
57. Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2011;17(23):2801-11.
58. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003;361(9353):226-8.
59. Ding Y, Li S, Ma RL, Guo H, Zhang J, Zhang M, et al. Association of homeostasis model assessment of insulin resistance, adiponectin, and low-grade inflammation with the course of the metabolic syndrome. *Clinical biochemistry*. 2015.
60. Comuzzie AG, Funahashi T, Sonnenberg G, Martin LJ, Jacob HJ, Black AE, et al. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(9):4321-5.
61. Stumvoll M, Tschratter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, et al. Association of the TG Polymorphism in adiponectin (Exon 2) with obesity and insulin sensitivity interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(1):37-41.
62. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*. 2002;51(7):2306-12.
63. Melistas L, Mantzoros CS, Kontogianni M, Antonopoulou S, Ordovas JM, Yiannakouris N. Association of the +45T>G and +276G>T polymorphisms in the adiponectin gene with insulin resistance in nondiabetic Greek women. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2009;161(6):845-52.

64. openSNP databases: SNP rs2241766 [Internet]. openSNP. Disponível em: <https://www.opensnp.org/snps/rs2241766>. Acesso em: 02 dez 2014.
65. Loos RJ, Ruchat S, Rankinen T, Tremblay A, Perusse L, Bouchard C. Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;85(1):26-34.
66. Li X, Wei D, He H, Zhang J, Wang C, Ma M, et al. Association of the adiponectin gene (ADIPOQ) +45 T > G polymorphism with the metabolic syndrome among Han Chinese in Sichuan province of China. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2012;21(2):296-301.
67. National Center for Biotechnology Information NCBI. NCBI databases: LEP [Internet]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3952>. Acesso em: 02 set 2015.
68. Genetics Home Reference. LEP. [Internet]. Disponível em: <http://ghr.nlm.nih.gov/dynamicimages/chromomap/LEP.jpeg>. Acesso em: 22 ago 2015.
69. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
70. Considine RV. Human leptin: an adipocyte hormone with weight-regulatory and endocrine functions. *Seminars in vascular medicine*. 2005;5(1):15-24.
71. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395(6704):763-70.
72. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature medicine*. 1995;1(11):1155-61.
73. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England journal of medicine*. 1996;334(5):292-5.
74. Henson MC, Swan KF, O'Neil JS. Expression of placental leptin and leptin receptor transcripts in early pregnancy and at term. *Obstetrics and gynecology*. 1998;92(6):1020-8.

75. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nature medicine*. 1997;3(9):1029-33.
76. Hassink SG, de Lancey E, Sheslow DV, Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, Considine RV, et al. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics*. 1997;100(1):E1.
77. Fonseca MJ, Santos AC. Umbilical cord blood adipokines and newborn weight change. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2015;291(5):1037-40.
78. Tsai PJ, Yu CH, Hsu SP, Lee YH, Chiou CH, Hsu YW, et al. Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. *Clinical endocrinology*. 2004;61(1):88-93.
79. openSNP databases: SNP rs7799039 [Internet]. openSNP. Disponível em: <https://www.opensnp.org/snps/rs7799039>. Acesso em: 02 dez 2014.
80. National Center for Biotechnology Information NCBI. NCBI databases: FTO [Internet]. National Center for Biotechnology Information, NCBI. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/79068>. Acesso em: 02 set 2015.
81. Sanchez-Pulido L, Andrade-Navarro MA. The FTO (fat mass and obesity associated) gene codes for a novel member of the non-heme dioxygenase superfamily. *BMC biochemistry*. 2007;8:23.
82. Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science (New York, NY)*. 2007;318(5855):1469-72.
83. Genetics Home Reference. FTO. [Internet]. Disponível em: <http://ghr.nlm.nih.gov/dynamicimages/chromomap/FTO.jpeg>. Acesso em: 22 ago 2015.
84. Stratigopoulos G, Padilla SL, LeDuc CA, Watson E, Hattersley AT, McCarthy MI, et al. Regulation of Fto/Ftm gene expression in mice and humans. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2008;294(4):R1185-96.
85. Sebert SP, Hyatt MA, Chan LL, Yiallourides M, Fainberg HP, Patel N, et al. Influence of prenatal nutrition and obesity on tissue specific fat mass and obesity-

associated (FTO) gene expression. *Reproduction* (Cambridge, England). 2010;139(1):265-74.

86. Fischer J, Koch L, Emmerling C, Vierkotten J, Peters T, Bruning JC, et al. Inactivation of the Fto gene protects from obesity. *Nature*. 2009;458(7240):894-8.

87. Gu HF, Alvarsson A, Brismar K. The Common FTO Genetic Polymorphism rs9939609 is Associated with Increased BMI in Type 1 Diabetes but not with Diabetic Nephropathy. *Biomarker insights*. 2010;5:29-32.

88. openSNP databases: SNP rs9939609 [Internet]. openSNP. Disponível em: <https://opensnp.org/snps/rs9939609>. Acesso em: 02 dez 2014.

89. Cecil JE, Tavendale R, Watt P, Hetherington MM, Palmer CN. An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *The New England journal of medicine*. 2008;359(24):2558-66.

90. Tschritter O, Preissl H, Yokoyama Y, Machicao F, Haring HU, Fritsche A. Variation in the FTO gene locus is associated with cerebrocortical insulin resistance in humans. *Diabetologia*. 2007;50(12):2602-3.

91. Tanofsky-Kraff M, Han JC, Anandalingam K, Shomaker LB, Columbo KM, Wolkoff LE, et al. The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;90(6):1483-8.

92. Descamps OS, Tarantino E, Guilmot PF. Does FTO have a paradoxical effect in fetal life? *BMC genetics*. 2014;15(1):3.

93. Brasil. Ministério da Saúde SINASC. Sistema de Informações de Nascidos Vivos. Sistema Único de Saúde [Internet]. 2010. Disponível em: <http://www.cmsjoinville.bemsul.com/wp-content/uploads/2011/03/Relat%C3%B3rio-de-Gest%C3%A3o-SMS-2010.pdf>.

94. Sales WB, Silleno Junior JD, Kroll C, Mastroeni SSBS, Silva JC, Mastroeni MF. Influence of altered maternal lipid profile on the lipid profile of the newborn. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2015;59:123-8.

95. Rasmussen K, Yaktine A. Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines. Washington (DC): Institute of Medicine (US) of the National Research Council (US) Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines, 2009 2009. Report No.

96. Miller HC, Hassanein K. Fetal malnutrition in white newborn infants: maternal factors. *Pediatrics*. 1973;52(4):504-12.
97. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Current researches in anesthesia & analgesia*. 1953;32(4):260-7.
98. Kline MC, Duewer DL, Redman JW, Butler JM, Boyer DA. Polymerase chain reaction amplification of DNA from aged blood stains: quantitative evaluation of the "suitability for purpose" of four filter papers as archival media. *Analytical chemistry*. 2002;74(8):1863-9.
99. Lopez-Bermejo A, Petry CJ, Diaz M, Sebastiani G, de Zegher F, Dunger DB, et al. The association between the FTO gene and fat mass in humans develops by the postnatal age of two weeks. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(4):1501-5.
100. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional da Saúde. Resolução nº466, de 12 de dezembro de 2012. *Diário Oficial*. 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
Conforme Resoluções 196 e 340 do Conselho Nacional de Saúde

Eu, _____ concordo participar do estudo "Preditores da retenção de peso da parturiente no pós-parto, e do estado nutricional do recém-nascido", sob coordenação dos Profs. Marco F. Mastroeni e Silmara SBS Mastroeni, e dos pesquisadores Sandra A. Czarnobay e Silleno JD Júnior. Esta pesquisa será realizada no período de janeiro a abril de 2012. O objetivo desta pesquisa é determinar os principais preditores da retenção de peso da parturiente no pós-parto, e do estado nutricional de recém-nascidos na Maternidade Darcy Vargas de Joinville, SC. Declaro permitir que os pesquisadores envolvidos na pesquisa obtenham meus dados e de meu filho para serem utilizados exclusivamente nesta pesquisa. Tais dados incluem idade, estado civil, tabagismo, renda, escolaridade, estatura, peso, tipo de parto, idade da menarca, paridade, número de gestações, número de consultas pré-natal, intervalo interpartal, idade gestacional, uso de medicamentos e informações sobre comorbidades. Em relação ao meu filho serão obtidos dados sobre peso, comprimento, apgar, circunferências craniana e torácica ao nascer. Fornecerei todos os dados de forma gratuita. O único exame que irá gerar um desconforto devido a punção venosa será a colheita de sangue para a dosagem dos exames de: colesterol total, HDL-c, LDL-c, triglicérides, hemoglobina glicada, leptina, adiponectina e outros metabólitos associados, caso estritamente necessário. Uma gota de sangue será utilizada para o estudo de genes associados à obesidade. Poderei optar em receber ou não os resultados dos exames, os quais poderão ser utilizados para divulgação científica porém, sem a minha identificação e a de meu filho. A amostra de sangue será encaminhada ao laboratório conveniado, onde será processada e analisada. Com o término desta pesquisa minha amostra de sangue e a de meu filho serão descartados pelo coordenador da pesquisa. A amostra contendo o material genético será armazenada na Univille e poderei retirá-la/eliminá-la quando eu julgar necessário. Caso seja diagnosticado qualquer tipo de doença serei imediatamente encaminhada ao SUS para acompanhamento médico. No caso de eventual dano comprovadamente ocasionado pela colheita de sangue, receberei indenização na forma de acompanhamento médico pelo SUS e custeio de medicamentos necessários ao tratamento.

As informações obtidas nesta pesquisa irão contribuir para o desenvolvimento de políticas públicas de saúde voltadas à prevenção da obesidade materna e do estado nutricional inadequado da criança ao nascer. Permito que toda informação obtida com meus dados e de meu filho seja divulgada em eventos científicos porém, sem que eu e meu filho sejam identificados. Fui esclarecida quanto aos procedimentos a serem realizados na pesquisa e estou ciente que os riscos são mínimos. Em qualquer momento poderei solicitar maiores esclarecimentos sobre o desenvolvimento das atividades e serei prontamente atendida pelos pesquisadores responsáveis. Poderei retirar meu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização e prejuízo ao seu cuidado. Para outras informações ou esclarecimentos devo entrar em contato com Marco ou Silmara através dos números: 47 3425-8743 ou 9978-2590. Para reclamações, devo entrar em contato com o Programa de Mestrado em Saúde e Meio Ambiente/Univille, através do número 47 3461-9152. Este termo está redigido em duas vias, uma que ficará sob minha guarda e outra sob a guarda do coordenador da pesquisa.

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVILLE. Endereço – Paulo Malschitzki, 10 - Bairro Zona Industrial - Campus Universitário - CEP 89.219-710 -Joinville/ SC.

Data: _____ / _____ / 2012, Joinville, SC.

Assinatura da parturiente

Prof. Dr. Marco F. Mastroeni (CRB 17.172 03D)
Profª. Drª Silmara S.B.S. Mastroeni (CRN 5765 02R)
Pesquisadores responsáveis

**APÊNDICE B – Confirmação da submissão do artigo científico ao periódico
*American Journal of Human Biology***



Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to

American Journal of Human Biology

Manuscript ID

AJHB-15-0321

Title

Association among *ADIPOQ*, *LEP* and *FTO* Genes Polymorphisms with Large for Gestational Age Infants: Results from a Prospective Nested Case-Cohort Study

Authors

Kroll, Caroline
Mastroeni, Silmara
Veugelers, Paul
Mastroeni, Marco

Date Submitted

23-Dec-2015

[Author Dashboard](#)

© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2015. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

[@ScholarOneNews](#) | [System Requirements](#) | [Privacy Statement](#) | [Terms of Use](#)