



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO  
INTEGRADO EM MEDICINA**

**RITA INÊS FÉLIX SOARES**

***[DIABETES GESTACIONAL E PROGRAMAÇÃO  
FETAL]***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:  
PROF<sup>a</sup> DOUTORA MARIA LEONOR VIEGAS GOMES**

**[JANEIRO/2014]**

## Índice

Resumo.....	2
Abstract .....	4
Lista de abreviaturas.....	6
Introdução.....	8
Objectivo .....	9
Materiais e Métodos .....	9
Desenvolvimento.....	11
1. Diabetes Mellitus Gestacional .....	11
2. Ambiente Intrauterino e Programação Fetal .....	19
3. Modificações Epigenéticas .....	26
4. Prevenção .....	35
4.1 Prevenção pré-concepcional.....	36
4.2 Prevenção pré-natal .....	37
4.3 Prevenção pós-natal.....	39
Discussão e Conclusão .....	42
Agradecimentos.....	46
Bibliografia.....	47

## Resumo

**Introdução:** A diabetes gestacional é, actualmente, um problema de saúde pública. Sendo um estado patológico, aumenta a incidência de complicações tanto maternas como fetais. A programação fetal representa a oportunidade crucial para uma possível estratégia de prevenção na tentativa de parar a progressão da epidemia crescente da diabetes e outros distúrbios metabólicos.

**Objectivos:** Conhecimento dos mecanismos moleculares subjacentes a um ambiente intrauterino adverso, mais precisamente, gerado numa gravidez complicada por diabetes gestacional e suas modificações epigenéticas no feto com consequências para a sua vida futura, nomeadamente, no desenvolvimento de diabetes e síndrome metabólica. Conhecimento de possíveis estratégias de prevenção a partir daquele momento de oportunidade que é a programação fetal, de forma a reduzir o risco pré-programado de diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica.

**Métodos:** Pesquisa na base de dados da *PubMed* de literatura científica referente a diabetes gestacional, obesidade, síndrome metabólica e epigenética, bem como artigos mais específicos e relevantes para a programação fetal e recomendações para a avaliação e acompanhamento destas patologias.

**Desenvolvimento:** A epidemia crescente de diabetes mellitus tipo 2 e obesidade nos países desenvolvidos não pode ser apenas explicada pela sobrenutrição, baixa actividade física e/ou factores genéticos. Um ambiente intrauterino adverso poderá alterar a expressão génica permanentemente. Um insulto, durante esta fase crítica e sensível que é o desenvolvimento fetal, pode significar o aumento do risco de desenvolvimento de determinadas patologias

numa fase posterior da vida do indivíduo, nomeadamente, diabetes mellitus tipo 2, obesidade e doenças cardiovasculares. Desta forma, é fulcral definir estratégias de prevenção de forma a contrariar a crescente epidemia. Os mecanismos epigenéticos poderão ser, em parte, a chave dessa prevenção.

**Conclusão:** É necessário ter em conta que os distúrbios metabólicos na descendência exposta a diabetes gestacional resultam de uma combinação de factores genéticos e epigenéticos, sendo que os epigenéticos também envolvem alterações no transporte placentar, insulina, leptina, marcadores inflamatórios. Assim, é necessário focar a atenção no controlo e abordagem da mulher grávida com diabetes e obesidade, no que diz respeito ao rastreio, alterações do estilo de vida, controlo glicémico e ponderal, bem como a abordagem ao recém-nascido com o incentivo ao aleitamento materno. É urgente definir estratégias eficazes para o controlo dos distúrbios metabólicos.

**Palavras-chave:** diabetes gestacional, programação fetal, epigenética, doenças metabólicas

## **Abstract**

**Introduction:** Gestational diabetes is currently a public health problem. As a pathological state, gestational diabetes increases the incidence of complications both maternal and fetal. Fetal programming represents a crucial opportunity for possible prevention strategies in an attempt to stop the progression of the growing epidemic of diabetes and other metabolic disorders.

**Objectives:** To understand the molecular mechanisms underlying an adverse intrauterine environment, more precisely in a pregnancy complicated by gestational diabetes mellitus and its epigenetic modifications in the fetus with consequences for their future life, in particular the development of diabetes and metabolic syndrome. To know the potential prevention strategies from that window of opportunity which is the fetal programming in order to reduce the pre-programmed risk of type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome.

**Methods:** This review is based on searches from PubMed database of scientific literature relating to gestational diabetes, obesity, metabolic syndrome and epigenetics, as well as more specific and relevant articles for fetal programming and recommendations for the assessment and monitoring of these diseases.

**Results:** The growing epidemic of type 2 diabetes mellitus and obesity in developed countries cannot only be explained by the over nutrition, low physical activity and/or genetic factors. An adverse intrauterine environment can change the gene expression permanently. An insult during this critical and sensitive stage that is fetal development could mean an increase in the risk of developing certain diseases later in life, namely, diabetes mellitus type 2, obesity and cardiovascular disease. Therefore, it is essential to define prevention strategies in order to

counteract the growing epidemic. Epigenetic mechanisms may be, in part, the key to the prevention.

**Conclusion:** It is necessary to take into account that the metabolic disorders in the offspring exposed to gestational diabetes result from a combination of genetic and epigenetic factors. Epigenetic mechanisms also involve changes in the placental transfer, insulin, leptin, inflammatory markers. Thus it is necessary to focus attention on control and approach of the pregnant woman with diabetes and obesity, with regard to the screening, lifestyle changes, glycaemic and weight control, as well as the approach to the newborn with the encouragement of breastfeeding. There is an urgent need to define effective strategies for the control of metabolic disorders.

**Keywords:** gestational diabetes, fetal programming, epigenetics, metabolic diseases

**Lista de abreviaturas**

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADP	Adenosina Difosfato
ATG	Anomalia da Tolerância à Glicose
ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
CpGs	Dinucleotídeos citosina-guanina
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNMT1	ADN metiltransferase 1
DNMT3A	ADN metiltransferase 3A
DNMT3B	ADN metiltransferase 3B
DOHaD	Developmental Origins of Health and Disease
GIG	Grande para Idade Gestacional
GLP-1	Glucagon-like Peptide-1
GWAS	Genome Wide Association Study
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HDAC	Histona desacetilase
HTA	Hipertensão Arterial
IGF-1	Insulin-like Growth Factor 1
IGF-II	Insulin-like Growth Factor 2
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corporal
MEST	Mesoderm-specific transcript

OMS	Organização Mundial de Saúde
PDX-1	Pancreatic and Duodenal Homebox 1
PIG	Pequeno para Idade Gestacional
POMC	Pro-Opiomelanocortina
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
PTGO	Prova de Tolerância à Glicose Oral
RCIU	Restrição do Crescimento Intrauterino
RNA	Ácido Ribonucleico
ROS	Espécies Reactivas de Oxigénio
TNF- $\alpha$	Factor de Necrose Tumoral $\alpha$
TSH	Hormona Estimulante da Tiróide



## **Introdução**

O elo de ligação entre um ambiente intrauterino adverso e o desenvolvimento de determinada patologia numa fase posterior da vida humana tem sido observado na descendência de gravidezes complicadas por obesidade e diabetes mellitus. No entanto, os mecanismos moleculares subjacentes a este fenómeno são ainda desconhecidos.

O produto de concepção inicia a sua vida como um conjunto de genes que conduz ao desenvolvimento de um novo indivíduo. A nova e importante conclusão é que o ambiente intrauterino poderá ditar a forma de funcionamento destes mesmos genes. A exposição a um ambiente intrauterino adverso, nomeadamente, um ambiente hiperglicémico e hiperinsulinémico, pode provocar distúrbios permanentes nas respostas adaptativas epigenéticas, estruturais e funcionais responsáveis pela programação do desenvolvimento do indivíduo. Todo este processo, que influencia as consequências fetais a longo prazo, é denominado programação fetal.

A diabetes mellitus gestacional, sendo um estado patológico, aumenta a incidência de complicações tanto maternas como fetais. A grande maioria dos casos de diabetes gestacional tem associada a si a fisiopatologia da diabetes mellitus tipo 2. Sabe-se que a prevalência global de diabetes mellitus tipo 2 nos últimos anos tem aumentado a um ritmo alarmante prevendo-se que continue a aumentar (1), o que significa que há actualmente uma epidemia crescente de diabetes mellitus gestacional. Em Portugal a prevalência de diabetes em 2012 foi de 12,9% da população portuguesa com idades compreendidas entre os 20 e os 79 anos (7,8 milhões de indivíduos), a que corresponde um valor estimado de 1 milhão de indivíduos. O impacto do envelhecimento da estrutura etária da população portuguesa (20-79 anos) refletiu-se num aumento de 1,2 p.p. da taxa de prevalência da diabetes entre 2009 e 2012. (2) A prevalência da diabetes gestacional em Portugal Continental em 2012 foi de 4,8% da população parturiente que utilizou o Sistema Nacional de Saúde durante esse ano, registando

uma ligeira diminuição do número absoluto de casos registados, comparativamente ao ano transato. De salientar que apesar da alteração registada nos critérios de diagnóstico, que entrou em vigor a partir de Janeiro de 2011, não se verificou uma alteração significativa da prevalência registada.(2)

As vias e mecanismos exactos implicados na origem precoce de doenças crónicas, como é o caso da diabetes, ainda estão por esclarecer mas suspeita-se que a epigenética desempenhe um papel fundamental. Tendo em conta que durante o desenvolvimento precoce, o epigenoma está significativamente mais vulnerável a alterações, as intervenções antes, durante ou imediatamente após o parto poderão ser a chave para o atraso do ciclo vicioso que contribui para a actual epidemia da obesidade, resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2.

## **Objectivos**

Pretende-se, com a realização deste trabalho, efectuar uma revisão do conhecimento dos mecanismos ligados ao ambiente durante o período pré-concepcional, intrauterino e perinatal, passíveis de induzir alterações epigenéticas no feto e na sua programação metabólica. Com o conhecimento mais aprofundado destes mecanismos poder-se-á, assim, prevenir o risco pré-programado de diabetes mellitus tipo 2 causado pelo ambiente pré ou pós-natal.

## **Materiais e Métodos**

Na elaboração deste trabalho de revisão foram consultados artigos científicos obtidos através da pesquisa na base de dados *Pubmed*. Na generalidade foram utilizados os termos diabetes gestacional, programação fetal, epigenética, doenças metabólicas.

Foram relatados artigos datados desde 2006 e ainda alguns trabalhos anteriores que pelo cariz histórico e relevância para o trabalho foram também incluídos.

Foram ainda consultadas directrizes nacionais e internacionais de maior relevância para este trabalho de revisão.

## Desenvolvimento

### 1. Diabetes Mellitus Gestacional

A diabetes mellitus gestacional é um estado patológico, de intolerância à glucose, primariamente diagnosticada durante a gravidez (3), sendo a causa mais importante de hiperglicemia no decorrer da gravidez. (4) É caracterizada por um desequilíbrio ao nível da resistência à insulina e disfunção das células beta conduzindo à hiperglicemia materna.(3) A designação de diabetes materna engloba todas as variantes de diabetes detectadas durante a gravidez, no entanto, na grande maioria dos casos, tem associada a si a fisiopatologia da diabetes mellitus tipo 2. De facto, estas mulheres têm maior risco de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 numa fase posterior da sua vida, ou mesmo, após o parto, o que nos sugere uma possível origem fisiopatológica comum destas duas situações. (4-6)

Dependendo dos critérios de diagnóstico e de rastreio, a prevalência da diabetes gestacional varia entre 1,3% e 19,9%. (4, 7) Sabe-se que a prevalência global de diabetes mellitus nos últimos anos tem aumentado a um ritmo alarmante prevendo-se que continue a aumentar de forma exponencial, o que significa que há actualmente uma epidemia crescente de diabetes mellitus gestacional. (4, 7, 8) Esta epidemia tem como factores de risco a obesidade e a diabetes. (4)

Os critérios de diagnóstico recentemente estabelecidos baseiam-se na Prova de Tolerância à Glucose Oral (PTGO). Se a glicemia em jejum for  $\geq 92$  mg/dL (5,1 mmol/L) e/ou glucose após 1h  $\geq 180$  mg/dL (10,0 mmol/L) e/ou glucose após 2h é  $\geq 153$  mg/dL (8,5 mmol/L), estamos perante o diagnóstico de diabetes mellitus gestacional.(7, 9)

Na erada pré-insulina, a gravidez numa mãe diabética tinha um prognóstico sombrio tanto para a mãe como para o feto. A disponibilidade de insulina e a utilização de métodos modernos de tratamento melhoraram a sobrevivência da descendência. No entanto, ainda

assim continuam a demonstrar um risco acrescido de patologias como a obesidade e a diabetes. (8)

A diabetes mellitus gestacional é uma complicação médica comum na gravidez (10) e ocorre quando a adaptação das células beta pancreáticas da mulher grávida não é suficiente para controlar o ambiente diabetogénico (aumento moderado da resistência periférica à insulina) proporcionado pela gravidez, isto é, há um aumento da exigência de insulina para que haja suficiente suprimento de nutrientes ao feto.(7) O processo de adaptação dos ilhéus de Langerhans ao aumento da necessidade de insulina baseia-se no aumento da biossíntese de insulina, aumento da estimulação da secreção de insulina e aumento da massa de células  $\beta$  pancreáticas. (5)

A fisiopatologia subjacente à diabetes mellitus gestacional, embora ainda sob discussão, baseia-se, então, na resistência à insulina combinada com a disfunção das células  $\beta$ . (10) A insulina potencia a homeostasia ao estimular a captação de glicose para os tecidos periféricos, inibindo a produção de glicose pelo fígado e suprimindo a libertação de lípidos armazenados do tecido adiposo. A resistência à insulina é um estado em que concentrações normais de insulina atingem uma resposta biológica de menor dimensão e, frequentemente, precede o desenvolvimento de diabetes.(10)

A maioria das mulheres que desenvolvem diabetes mellitus gestacional apresenta factores de risco prévios à gravidez, que muitas vezes reportam à sua infância ou mesmo ao seu desenvolvimento fetal. (8) Os factores de risco mais comuns contemplam a obesidade prévia à gravidez ( $IMC > 30Kg/m^2$ ), idade materna avançada, história de diabetes gestacional em gravidez prévia (10), etnia (maior prevalência de diabetes mellitus tipo2 em Afro-Americanos, Hispânicos, Índios Americanos, Mulheres Asiáticas (5)), Síndrome do Ovário Poliquístico, Hipertensão essencial ou relacionada com a gravidez e História familiar de diabetes mellitus em parentes de 1º grau. No entanto, os três primeiros factores de risco

mencionados são os que têm maior impacto no risco de desenvolvimento de diabetes gestacional. (5, 7)

Como referido anteriormente, a diabetes materna é um estado patológico que complica a gravidez, tendo importantes implicações, tanto para a mãe como para a descendência, não só complicações precoces, mas também, consequências a longo prazo. (7, 10, 11)

Estas mulheres, ao desenvolverem diabetes durante a gravidez, são também expostas a um risco acrescido de síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2 e doença cardiovascular numa fase posterior da sua vida (7) , tendo sido demonstrado que expressam marcadores precoces de disfunção vascular, como sendo, um aumento da espessura das camadas íntima e média das artérias carótidas.(5)

As implicações para o feto incluem a maior prevalência de diabetes mellitus tipo 2 quando expostos à diabetes gestacional (6, 12), assim como um risco cerca de 2 vezes superior para desenvolver obesidade ou excesso de peso e cerca de 4 vezes superior de desenvolver síndrome metabólica. (4) No fundo, a descendência exposta à hiperglicemia materna durante o desenvolvimento *in útero* mostrou ser mais propensa ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos relacionados com o excesso de peso e resistência à insulina, quando atingem a adolescência e início da idade adulta. (6) Recentemente foi relatado um aumento do risco tanto de diabetes tipo 2 como anomalia da tolerância à glicose ou anomalia da glucose em jejum na descendência adulta de mulheres com diabetes gestacional ou diabetes mellitus tipo 1 controladas com terapêutica médica nutricional. (13)

As anomalias congénitas, não são mais comuns em indivíduos expostos a diabetes gestacional, no entanto, há um aumento da incidência de morte *in útero* quando o controlo da glicemia é precário.(5) Em contraste com os bem conhecidos efeitos teratogénicos da hiperglicemia peri-concepcional em mães com diabetes mellitus tipo 1 e 2, a hiperglicemia em mães com DMG normalmente desenvolve-se durante o 3º trimestre, quando a

organogénese está já largamente avançada. Desta forma, as malformações congénitas não estão significativamente aumentadas, como referido anteriormente. (13)

A organogénese, geralmente, tem início na 3ª semana após fertilização e é praticamente concluída por volta da 8ª à 10ª semana de gestação, o que significa que quando a maioria das mulheres constata a gravidez, já uma porção significativa do processo de organogénese está completo.

A insulina materna não atravessa as estruturas placentares e os ilhéus  $\beta$  fetais não têm o seu desenvolvimento concluído até à 12ª semana de gestação, logo a produção de insulina não é efectuada até esta altura. Aqui as hiperglicemias precoces podem dar origem a malformações congénitas e abortos, algo que é cerca de 2 a 3 vezes mais provável em doentes com diabetes mellitus tipo 1 ou 2 do que em gravidezes saudáveis. (5) Isto é importante uma vez que se conhecem os efeitos teratogénicos da hiperglicemia peri-concepcional, e a diabetes mellitus tipo 2 não diagnosticada terá provavelmente um papel nas eventuais consequências dessa gravidez. É importante, também, analisar o facto de estas anomalias metabólicas da descendência poderem aumentar o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares na descendência numa fase posterior das suas vidas. Já que a obesidade e a diabetes são conhecidas por aumentarem o risco cardiovascular, a assumpção natural, é que a descendência de mães diabéticas poderá ter consequências cardiovasculares.(7) Justifica-se, portanto, um controlo glicémico mais apertado das mães diabéticas e um rastreio mais apertado da descendência como grupo de risco. No entanto, poucos estudos humanos analisam o efeito de um ambiente intrauterino diabético nos factores de risco cardiovasculares. Evidências de alterações cardiovasculares em gravidezes complicadas por diabetes são aparentes durante o 3º trimestre da vida uterina.(7) O coração fetal mostra reduzida contractilidade ventricular comparativamente com gravidezes não complicadas por diabetes, mesmo que a última fosse complicada por doença hipertensiva.(7) Estes achados sugerem que o ambiente intrauterino

diabetogénico induz alterações bioquímicas no sistema cardiovascular que afecta o seu funcionamento e que estas alterações são diferentes daquelas causadas por ambientes intrauterinos adversos de diferente ordem, nomeadamente, gravidezes hipertensivas.(7)

Dados de investigação também sugerem que a exposição a um ambiente intrauterino diabetogénico está associada a um aumento da dislipidémia (aumento do colesterol LDL total), inflamação vascular subclínica e processos de disfunção endotelial na descendência, estando todos eles relacionados com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares no futuro. (7)

Uma outra implicação fetal da exposição à diabetes gestacional é o desenvolvimento de anomalias morfológicas dos ilhéus na descendência, demonstrado através da sua forma anormal, assim como através da hiperplasia e hipertrofia dos mesmos.(14)

A glucose materna atravessa a placenta facilmente e leva a hiperglicemia intrauterina, hiperinsulinémia fetal e possível modificação do crescimento e desenvolvimento do feto. (13) A diabetes gestacional pode, assim, dar origem, tanto a descendência macrossómica como a descendência com restrição do crescimento intrauterino (15, 16), dependendo do grau de hiperglicemia apresentado.(17, 18) Há uma crescente evidência epidemiológica de que o excesso de aporte nutricional ao feto pode produzir fenótipos semelhantes aos da subnutrição na descendência.(19)

A visceromegália fetal e macrossomia em neonatos expostos à DMG podem dever-se aos efeitos promotores do crescimento atribuídos à insulina fetal que é produzida em resposta aos níveis elevados de glucose materna (sobrestimulação das células  $\beta$ ). (20) Assim, a macrossomia associada à diabetes gestacional mostrou acompanhar-se de hiperplasia das células  $\beta$  e hiperinsulinismo na infância.(16) Para induzir a hiperplasia das células  $\beta$ , é necessária uma estrutura hipotalâmica intacta, predizendo o importante papel do hipotálamo na programação perinatal.(16) .



Este excesso de crescimento fetal é causado pela grande disponibilidade de nutrientes da mãe para o feto em desenvolvimento através da placenta.(3, 7) O principal nutriente em excesso é a glucose sérica materna que atravessa a placenta livremente, o mesmo não acontecendo com a insulina materna. (3, 7, 16) Como resultado disto, o pâncreas fetal, embora imaturo, é capaz de produzir níveis elevados de insulina, o que por sua vez vai actuar como uma hormona do crescimento e promover o crescimento e adiposidade no feto.(7) Recém-nascidos com elevado peso de nascimento mostram aumento da massa de tecido adiposo e um risco elevado de obesidade e diabetes no futuro. (7, 21) O grau de hiperglicemia parece determinar o efeito metabólico que irá ter no neonato. (7) Para além do excesso de glucose, alterações no transporte de aminoácidos e dos sistemas de transporte placentar também vão contribuir para o crescimento fetal exagerado. (7) A macrossomia fetal, assim como os recém-nascidos grandes para a idade gestacional (GIG) também contribuem para o aumento do risco de cesariana e parto traumático. (7)

Tal como foi referido anteriormente, a diabetes gestacional também pode dar origem a descendência pequena para a idade gestacional (PIG) e com RCIU. (15, 16)

A placenta é um regulador chave na troca de nutrientes entre a mãe e o feto e desenvolve-se em paralelo com o feto. (6) As causas subjacentes à subnutrição fetal incluem, nutrição materna pobre ou desequilibrada, composição corporal sub-ótima, carga física excessiva antes e durante a gravidez, mau funcionamento do mecanismo de suprimento nutricional ao feto (19), hipóxia, glucocorticoides, consumo de tabaco e álcool. (22) O baixo peso de nascimento é definido como peso abaixo do percentil 10 para a idade gestacional (ou <2,5 Kg a termo) e ocorre em cerca de 10% das gravidezes em todo o mundo.(22) O ambiente intrauterino anómalo, com restrição do suprimento de nutrientes cruciais ao feto limita, conseqüentemente, o seu crescimento. (15) Enquanto a subnutrição materna é responsável pela maioria dos casos de restrição do crescimento intrauterino nos países em

desenvolvimento (22) a insuficiência uteroplacentar, causada por distúrbios como a pré-eclâmpsia, consumo tabágico durante a gravidez, e anomalias do desenvolvimento uteroplacentar, é uma das causas mais comuns de restrição do crescimento intrauterino (14) no mundo ocidental e torna-se mais aparente durante o 3º trimestre, quando as exigências fetais são maiores. (22) Estudos recentes também demonstraram a existência de resistência à insulina em crianças e jovens adultos nascidos a termo com baixo peso para a idade gestacional ou prematuros.(23)

Ainda em relação ao baixo peso de nascimento, permanece controverso se os efeitos adversos da restrição do crescimento intrauterino na homeostasia da glucose são mediados através da programação fetal do pâncreas endócrino. (15) Fetos e recém-nascidos com RCIU foram reportados, num estudo, como tendo uma população reduzida de células  $\beta$  pancreáticas, o que se relaciona com baixos níveis de insulina e glucose, e num outro estudo uma percentagem normal de área ocupada por células  $\beta$ . (15, 16) A associação entre baixo peso de nascimento e risco de desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, em alguns estudos, poderia teoricamente, ser explicada por uma taxa de crescimento reduzida determinada geneticamente, ou seja, o genótipo responsável pela diabetes tipo 2 poderá, por si só, causar restrição do crescimento *in útero*. (15) Isto forma a base da hipótese da insulina fetal, que sugere que a resistência à insulina geneticamente determinada pode resultar em baixo crescimento fetal mediado pela insulina *in útero*, assim como a resistência à insulina na infância e vida adulta. (15) Recém-nascidos com baixo peso de nascimento e que posteriormente ganham peso rapidamente têm maior risco de desenvolver diabetes mellitus tipo 2. (24)

Alguns estudos mostraram que a descendência de mães diabéticas tinha, estatisticamente, maior incidência de anomalia da tolerância à glicose (ATG), constituindo este, um bem conhecido, estado de risco para o desenvolvimento de diabetes. (7, 17) Estas

crianças são mais frequentemente obesas e têm maior risco de vir a desenvolver diabetes numa fase posterior da sua vida.(17, 18) Um outro estudo concluiu que adultos descendentes de mães com início da diabetes mellitus tipo 2 precocemente têm uma redução da função das células  $\beta$ , atribuída à exposição da hiperglicemia materna ligeira. (25)

Assim, a consequência principal da exposição a um ambiente intrauterino diabetogénico, como acontece na diabetes gestacional, em associação à susceptibilidade genética é o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 na descendência.(7)

Doenças metabólicas como a obesidade e a diabetes mellitus tipo 2 caracterizam-se por serem multifactoriais, envolvendo interações genéticas e ambientais. (10) A diabetes mellitus e a obesidade são dois estados patológicos que frequentemente coexistem, e, assim, tal como já foi frisado em relação à diabetes materna, também a obesidade materna pode contribuir para o desenvolvimento de diabetes mellitus e síndrome metabólica na descendência.(3) O aumento do risco de obesidade na descendência está relacionado com o grau de hiperinsulinismo fetal. (16)

Por si só a obesidade é uma fonte de complicações durante a gravidez, como sendo, o aumento a morbilidade e mortalidade materna e fetal, nomeadamente, o aumento do risco de pré-eclâmpsia, necessidade de cesariana, parto prematuro, macrossomia fetal e mortalidade fetal. (17) O aumento de citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente, IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , em indivíduos obesos, mostrou desempenhar um papel no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. (14) As citocinas promovem um ambiente resistente à insulina e com elevado teor de triglicédeos, resultando no aumento da pressão sanguínea e potencialmente doença coronária, para além de também aumentarem a formação de placa no desenvolvimento da aterosclerose e contribuírem para a progressão da doença. (14)

A obesidade deverá, portanto, ser uma fonte de preocupação. Em países ocidentais cerca de um terço das mulheres em idade reprodutiva tem excesso de peso e, provavelmente,

mais de 10% das mulheres grávidas desenvolve diabetes gestacional que, na maior parte dos casos, não é diagnosticada e conseqüentemente, não é tratada.(11) Deverá, também, ser tido em conta o facto de não ser uma coincidência a epidemia da obesidade e da diabetes afectar, não só adultos, mas também, e cada vez mais, crianças e até recém-nascidos. (11)

Em suma, a diabetes gestacional é um importante problema de saúde considerando que as anomalias do metabolismo da glucose podem ter início em crianças de 3 anos de idade e mais de 80% das crianças com excesso de peso/obesidade assim permanecerem durante a vida adulta. (4) A diabetes gestacional é, assim, um bom modelo para o estudo dos mecanismos envolvidos na programação metabólica fetal e também para elucidar novos mecanismos que ajudem ao diagnóstico, tratamento, e prevenção das suas conseqüências para os recém-nascidos e gerações futuras. (4) A epigenética é, actualmente, um mecanismo muito promissor para a programação metabólica fetal.(4)

## **2. Ambiente Intrauterino e Programação Fetal**

O período desde a concepção até ao nascimento é de rápido crescimento, replicação celular e diferenciação, assim como maturação funcional dos sistemas orgânicos. Estes processos são muito sensíveis às alterações do ambiente intrauterino. (15) Um ambiente intrauterino adverso pode ocorrer por diversas razões como subnutrição ou sobrenutrição materna, doença materna ou stresse psicológico que ocorram durante fases críticas do desenvolvimento. (14) A programação fetal refere-se ao processo pelo qual a estimulação ou o insulto num período crítico do desenvolvimento humano tem conseqüências a longo prazo.(8, 10, 15, 23) Estudos epidemiológicos e em modelos animais apoiam o conceito de que há um período crítico de programação do desenvolvimento em que exposições a

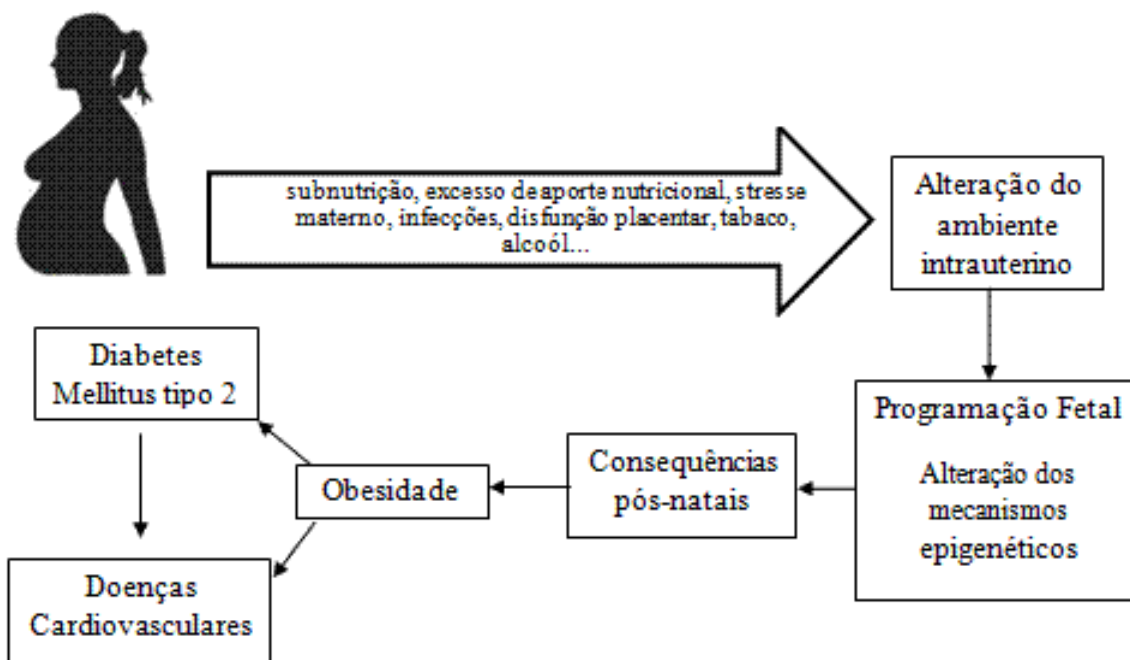
ambientes intrauterinos adversos ou eventos neonatais podem tornar um indivíduo mais susceptível ao desenvolvimento de doenças na sua vida adulta como obesidade e diabetes.(18)

Factores de risco como o stresse materno, infecções, disfunção placentar, tabaco e álcool, afectam negativamente o ambiente intrauterino e consequentemente a programação fetal. (Fig.1) É sabido que o ambiente intrauterino durante a vida fetal influencia o desenvolvimento de um determinado fenótipo metabólico na descendência, (26) no entanto, o mecanismo pelo qual isto ocorre ainda não é totalmente compreendido. (17) Um insulto, durante a fase crítica e sensível que é o desenvolvimento fetal, pode significar consequências sérias a longo prazo, nomeadamente, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares.

No entanto, deve ser tido em conta, que o ambiente pós-natal como por exemplo, o estilo de vida (tipo de alimentação e exercício) assim como a genética desempenham um papel preponderante na programação da susceptibilidade da descendência a determinadas doenças. (14) As doenças cardiovasculares foram uma das primeiras doenças a ser reconhecidas como estando associadas a um ambiente intrauterino adverso.(14) Um aumento na ocorrência de hipertensão é comumente observado na descendência sujeita a malnutrição durante a gestação.(14) No geral, a programação fetal parece aumentar a susceptibilidade ao desenvolvimento de doença cardiovascular. Embora os mecanismos exactos sejam ainda desconhecidos está a tornar-se cada vez mais claro que tanto os mecanismos fisiológicos como as alterações genéticas estão implicados.(14)

O epigenoma é restabelecido em idades específicas do desenvolvimento e é feita a manutenção durante toda a vida, tornando-se um candidato de primeira linha para a base ou origem da programação fetal. (21) A sensibilidade do epigenoma ao ambiente é objectivada como um mecanismo adaptativo pelo qual o organismo em desenvolvimento ajusta os seus sistemas metabólicos e homeostáticos para se moldar ao ambiente extrauterino com que irá

contactar. (19) A discrepância entre o ambiente intrauterino e extrauterino pode prever a susceptibilidade individual ao desenvolvimento de doença no futuro. (14)



**Fig. 1** Ilustração esquemática dos efeitos de um ambiente intrauterino adverso na programação fetal e suas consequências no desenvolvimento de doenças numa fase posterior da vida do indivíduo, nomeadamente, diabetes tipo 2, obesidade e doenças cardiovasculares. (Adaptado de *Remacle C, 2007*) (17)

A presença de diabetes materna está associada a uma incidência de diabetes na descendência significativamente maior do que seria de esperar apenas por transmissão materna de traços genéticos. (26) A epidemia crescente de diabetes mellitus tipo 2 e obesidade nos países desenvolvidos, referida anteriormente, não pode ser somente explicada pela sobrenutrição, baixa actividade física e/ou factores genéticos. (20) Desta forma, a susceptibilidade para o desenvolvimento da diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica numa fase pós-natal do indivíduo pode estar relacionada com ambientes intrauterinos caracterizados tanto por excesso de aporte nutricional como por carência de aporte nutricional.(17) (Fig.2) Há evidências epidemiológicas que sugerem que um ambiente

intrauterino adverso poderá alterar a expressão génica permanentemente (15, 24) e desta forma, estará associado a um aumento do risco de desenvolvimento de determinadas patologias numa fase posterior da vida do indivíduo. (3, 7, 15, 17, 18)

O risco de desenvolvimento de doenças crónicas após a exposição a condições intrauterinas adversas conduziu à formulação da hipótese de programação metabólica fetal (Hipótese de Barker). (3) Estes estudos correlacionavam o peso de nascimento com a incidência de doenças durante a vida adulta e propunham que o ambiente fetal adverso, com carência nutricional, seguido de grande aporte nutricional durante a vida adulta poderia ser responsável pelo desenvolvimento de doenças crónicas no adulto.(10)

A expressão de genes maternos pode alterar o ambiente fetal, mas o ambiente materno intrauterino, pode também, influenciar e modificar a expressão génica fetal e influenciar o peso de nascimento.(15) Muitos estudos demonstraram que a RCIU está associada a um aumento do stresse oxidativo em fetos humanos, isto porque, a disponibilidade limitada de nutrientes tem como consequência major uma alteração no estado redox em tecidos fetais susceptíveis levando a stresse oxidativo. (15) Na RCIU verificam-se baixos níveis de oxigénio, observando-se diminuição da actividade de complexos da cadeia de transporte de electrões o que vai gerar aumento dos níveis de espécies reactivas de oxigénio (ROS) que por sua vez iniciam diversas reacções oxidativas que irão provocar lesões, não só na mitocôndria mas também nas proteínas celulares, lípidos e ácidos nucleicos. (15) Apesar de tudo, é importante referir que será um erro conceptual afirmar que o baixo peso de nascimento, por si só, possa causar doença numa fase posterior da vida do indivíduo. (19) A reestruturação dos tecidos corporais nos primórdios da vida do indivíduo, a reprogramação dos eixos endócrinos e metabólicos, isto é, a programação fetal, será o verdadeiro responsável pelas consequências a longo prazo na vida do indivíduo, uma vez que, esta programação pode ocorrer na ausência de alterações no peso do recém-nascido. (19) Estas associações com peso de nascimento, na

verdade, ocorrem porque os insultos que programam a função frequentemente também reduzem o crescimento e o peso de nascimento.(19)

Mais estudos epidemiológicos mostraram evidências de que a restrição do crescimento intrauterino e baixo peso de nascimento estavam relacionados com aumento do risco de hipertensão, doença coronária e diabetes tipo 2 (10), sendo que o estudo mais importante foi realizado entre 1944 e 1945 durante o período do “Inverno de Fome Holandês”, em crianças nascidas neste período de tempo. (14, 16, 19) Os investigadores que realizaram este estudo puderam fazer associações entre indivíduos que foram sujeitos à privação nutricional durante a gestação precoce e aumentaram a susceptibilidade ao desenvolvimento de hipertensão, perfil lipídico mais aterogénico, maior Índice de Massa Corporal (IMC) e maior risco de doença coronária enquanto que aqueles que foram sujeitos à carência nutricional durante a gestação tardia tiveram um aumento do risco de anomalia da tolerância à glucose e obesidade durante a vida adulta. (14) Concluiu-se, também, que a diabetes tipo 2 era mais prevalente entre os indivíduos expostos à carência nutricional *in útero* durante o período do “Inverno de Fome Holandês”, marcada pela reduzida tolerância à glucose e elevadas concentrações de insulina, entre indivíduos de meia-idade. (14)

Uma das preocupações com indivíduos com RCIU é o facto de estes passarem por um período de crescimento compensatório (“*catch-up growth*”, mecanismo de sobrevivência adaptativo) quando expostos a um ambiente extrauterino de abundância nutricional. (14) No entanto, o seu peso é repostado, aquando da infância tardia, na direcção da sua trajectória de crescimento geneticamente programada (22) Este período de rápido crescimento é seguido de uma redução na sensibilidade à insulina que ocorre geralmente, na presença de outros factores, como aumento da adiposidade e hipercolesterolemia. (14) O crescimento compensatório rápido parece ser um dos factores determinantes para o desenvolvimento da resistência à insulina em crianças que nascem com baixo peso. (14) Está independentemente



associado a maior risco de desenvolvimento de um espectro de doenças no adulto. (22) O estudo durante o período do “Inverno de Fome Holandês” representa assim, um exemplo clássico da discrepância ambiental. Indivíduos que nasceram num ambiente extrauterino em que as fontes nutricionais se tornaram novamente abundantes, pois seguiu-se ao final da II Grande Guerra, a sua reprogramação metabólica fora considerada desnecessária para o ambiente em que iriam viver. (14) No entanto, alguns estudos demonstraram que o rápido crescimento antes do primeiro ano de vida poderia ser protector contra efeitos adversos decorrentes do baixo peso de nascimento através de uma resposta adaptativa ao aumento da exigência, demonstrando, que, de facto, o *timing* do crescimento parece ser um determinante para a saúde do indivíduo a longo prazo.(22)

A hipótese do “*thrifty phenotype*” postula que o desenvolvimento *in útero* é regulado de tal forma que programa o metabolismo do feto em desenvolvimento, otimizando-o de acordo com determinado ambiente nutricional pós-natal. (27) Nesta hipótese, o crescimento compensatório dos recém-nascidos com baixo peso para a idade gestacional e que tem como consequência a obesidade infantil, foi considerado como um preditor chave de doenças latentes na vida adulta. (21, 22) O metabolismo fetal está programado para responder aos sinais que reflectem o ambiente que o espera ao nascimento, e assim, o feto irá adaptar-se conservando nutrientes se o ambiente materno sinaliza condições adversas, ou não, se as condições forem favoráveis.(21) Se a realidade pós-natal corresponder às condições previstas, então a descendência estará melhor preparada para os desafios da sobrevivência.(21)

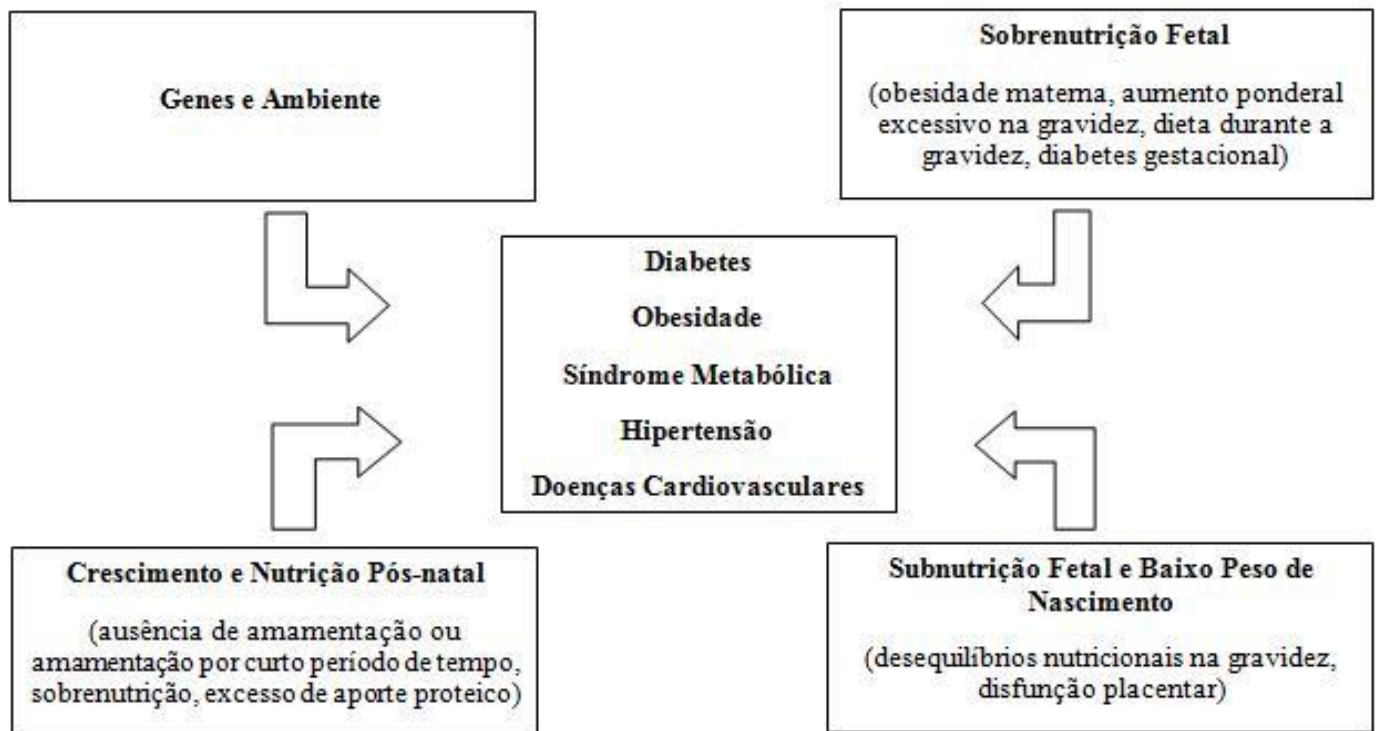
Diversas hormonas conhecidas por regular o crescimento e desenvolvimento fetal desempenham um papel central na programação intrauterina. Isto inclui hormonas anabólicas como a insulina, factores de crescimento insulina-like (IGF-1, IGF-II), prolactina e hormonas tiroideias, assim como as hormonas catabólicas como os glucocorticóides.(21) Todas estas hormonas actuam como sinalização nutricional e de maturação e adaptam o desenvolvimento

fetal às condições intrauterinas do momento, maximizando, assim, as possibilidades de sobrevivência *in útero* e após o nascimento. (21) Estes mecanismos de adaptação endócrinos podem ter benefícios a curto prazo para o bem-estar do feto mas, pelo contrário, também podem anular permanentemente o sistema endócrino que predispõe para funções fisiológicas aberrantes e, no final, doença.(21)

De facto, o estudo realizado durante o “Inverno de Fome Holandês”, foi uma oportunidade única para observar os efeitos da carência nutricional durante diferentes fases da gestação e levou à formulação da hipótese de que doenças metabólicas podem ser originadas por desequilíbrios nutricionais *in útero* durante períodos de tempo sensíveis. (10, 14, 19)

Permitiu, ainda, o suporte para o conceito de Origem do Desenvolvimento da Saúde e Doença (DOHaD), sendo o exemplo clássico desta hipótese. (10, 14, 19) A DOHaD subentende que eventos adversos que ocorrem durante o desenvolvimento fetal e neonatal aumentam a susceptibilidade a doenças na vida adulta como doenças metabólicas. (14) A sobrenutrição no início da vida ou o elevado peso de nascimento também foi relatado como estando associado ao aumento da susceptibilidade a doenças metabólicas. (10) A crescente realização de que mesmo uma leve mudança no ambiente intrauterino influencia as perspectivas do futuro indivíduo, não só no período peri-natal mas durante toda a sua vida, representam o core deste emergente conceito (8), focando-se, não só, nas consequências da deficiência nutricional mas também nos efeitos de outras exposições adversas no ambiente intrauterino. (10) Assim, o DOHaD está a contribuir com novas perspectivas em relação à patogénese de doenças metabólicas enfatizando a importância das exposições no ambiente intrauterino. (10)

De facto os efeitos epigenéticos precoces, tais como os que ocorrem num ambiente intrauterino hiperglicémico, desempenham um papel significativo, não apenas no desenvolvimento da doença, mas também no seu curso. (7)



**Fig.2** Factores que contribuem para o desenvolvimento de distúrbios endócrinos e outras doenças associadas. (Adaptado de *Koletzko, 2011*) (28)

### 3. Modificações Epigenéticas

O conceito de epigenética foi inicialmente utilizado pelo biólogo do desenvolvimento e evolucionista Conrad H. Waddington com o objectivo de descrever o mecanismo que conduzia um genótipo até ao fenótipo durante o desenvolvimento.(10)

O conceito de epigenética emerge ao disponibilizar o potencial mecanismo de susceptibilidade de diferentes indivíduos relativamente a uma doença, assim como, um elo de

ligação entre factores ambientais e consequências de uma doença. (10) A epigenética pode, assim, estabelecer um melhor conhecimento da etiologia da diabetes tipo 2 e obesidade e disponibilizar um modelo racional para explicar os mecanismos pelos quais factores ambientais intrauterinos influenciam doenças metabólicas. (10) O maior desafio será, na verdade, armazenar evidências que associem factores nutricionais e ambientais ao controlo da expressão génica.

Baseando-se no GWAS, um número considerável de defeitos genéticos, gerados por alterações na sequência de codificação, mostraram contribuir para doenças metabólicas. (10)

Apesar da diabetes mellitus tipo 2 ser uma doença com um componente genético conhecido e estar normalmente associada a uma história familiar, este facto nem sempre se verifica.(7) Como já foi dito anteriormente, a proporção epidemiológica tomada por esta doença atingiu níveis epidémicos, o que sugere que deverá, também, haver um forte componente ambiental contribuindo para a doença.(7) Isto é, a genética por si só é pouco provável que possa explicar as diferentes susceptibilidades a doenças numa população e as variantes genéticas identificadas no GWAS dão-nos a explicação apenas de uma pequena porção dos casos de doenças metabólicas. Assim, as interacções genótipo-ambiente podem ajudar-nos a compreender um pouco melhor a complexidade das doenças humanas. (10)

Muitos factores de risco foram estudados, no entanto, a exposição pré-natal a um ambiente intrauterino diabético parece ser o grande factor contributivo para o desenvolvimento da doença na descendência na sua vida futura. (3, 7, 18) O elo de ligação entre a exposição a um ambiente intrauterino adverso e o desenvolvimento de doença na vida adulta já foi observado em descendência de gravidezes complicadas por obesidade e diabetes mellitus, no entanto, os mecanismos moleculares por detrás deste fenómeno ainda não estão bem esclarecidos.(18) Assim, a exposição a um ambiente intrauterino adverso, nomeadamente, um ambiente caracterizado por hiperglicemia e hiperinsulinemia, pode

influenciar a epigenética e as respostas adaptativas estruturais e funcionais responsáveis pela programação do desenvolvimento.(18)

Alterações epigenéticas podem influenciar o funcionamento de determinados genes, podendo, assim, ter um papel silenciador ou activador. Estas alterações são herdadas aquando da mitose das células somáticas o que explicaria os efeitos a longo prazo na expressão génica de um organismo, contribuindo, assim, para a diversidade fenotípica. Também podem ser herdadas entre gerações afectando a saúde de gerações futuras.(15, 16, 19, 24) O código epigenético, embora transmissível entre gerações, não é fixo ao longo da vida. (27) É vulnerável a alterações ao longo de diversas fases da vida, nomeadamente, embriogénese, desenvolvimento fetal e neonatal, puberdade e idade avançada. (27)

O produto de concepção inicia a sua vida como um conjunto de genes que levam ao desenvolvimento de um novo indivíduo. Uma grande descoberta foi a conclusão de que o ambiente intrauterino dita o funcionamento destes genes. Tal como foi referido anteriormente, uma pequena mudança neste ambiente tem o potencial de modificar permanentemente o funcionamento dos genes e, desta forma, modificar a estrutura e função do sistema de desenvolvimento. (8)

Estão em curso diversos estudos experimentais em modelos animais, tendo como objectivo mimetizar o ambiente intrauterino adverso no sentido de investigar os mecanismos biológicos subjacentes. (10) Apesar da informação retirada de estudos em humanos ser limitada, alguns estudos deram-nos pistas acerca dos potenciais mecanismos epigenéticos envolvidos na programação do desenvolvimento de doenças como a obesidade e a diabetes mellitus tipo 2. (3) Não há evidências directas de que a exposição à hiperglicemia intrauterina conduza a alterações epigenéticas na descendência, no entanto, há amplas evidências mostrando modificações epigenéticas que regulam a expressão de genes-chave envolvidos na homeostasia da glucose em modelos com RCIU. (10)

Especialmente durante o período periconcepcional e vida embrionária a síntese de ADN é especialmente elevada tornando-se vulnerável a alterações, nomeadamente na metilação do ADN. (16) O controlo epigenético da expressão génica envolve modificações do genoma sem alteração da sequência de ADN. (21, 27)

Os principais tipos de processos epigenéticos são a metilação do ADN, modificação de histonas e regulação de microRNA's. (3, 19) A metilação do ADN é o sistema epigenético mais estável e melhor conhecido. Envolve a adição de um grupo metil ao 5º carbono das citocinas entre os dinucleotídeos citosina-guanina (CpGs). (3, 10, 15) Esta reacção é levada a cabo por diversos membros de uma única família de enzimas, ADN metiltransferases (a DNMT1 pensa-se que seja responsável pela manutenção da metilação durante a síntese de ADN, a DNMT3A e a DNMT3B são requisitos para a metilação *de novo*). (10, 15) As sequências CpG's são na maioria não metiladas e normalmente encontram-se em estruturas do ADN denominados ilhéus CpG (sequências ricas em dinucleotídeos citosina-guanina) localizados nas proximidades de regiões reguladoras ou codificadoras de cerca de 50-60% dos genes transcritos, modulando a expressão génica. (3, 10, 15) Regiões de ADN altamente metiladas (especialmente regiões promotoras) actuam reduzindo a expressão génica, isto é, bloqueando o acesso do factor de transcrição ao ADN. (3, 10) Assim, por consequência, um baixo nível de metilação (normalmente, na região promotora dos genes) permite uma maior expressão da proteína codificada. (6) Contribuem, também, para inactivação do cromossoma X, *imprinting* genómico, assim como, regulação da transcrição de genes específicos de determinados tecidos durante a diferenciação celular. (10, 15)

Considera-se que a metilação do ADN se estabelece precocemente no embrião e permanece dinâmica apenas durante a divisão e diferenciação celular. (10) A maioria dos ilhéus CpG permanece não metilado em células normais, no entanto, sob determinadas circunstâncias, como cancro e stresse oxidativo, podem tornar-se metilados *de novo*. Esta

metilação aberrante é acompanhada por mudanças locais de tal calibre, ao nível da modificação de histonas e estrutura da cromatina, que os ilhéus CpG adquirem uma conformação reprimida que é incompatível com a transcrição génica. O que ainda não é conhecido é porque determinados ilhéus CpG são susceptíveis a metilação aberrante. (15)

Acontecimentos ambientais e condições nutricionais podem, por esta razão, induzir alterações *in útero* permanentes na metilação do ADN e estas mudanças adaptativas podem ter um efeito duradouro, nomeadamente, durante toda a vida do indivíduo. Assim, a metilação de ADN funciona como uma ponte entre o ambiente de exposição e os fenótipos daí resultantes.(10)

Numa fase precoce da vida do indivíduo, há um declínio progressivo na expressão da DNMT1, a enzima que mantém os padrões de metilação do ADN. Isto leva a uma diminuição da metilação passiva de todo o genoma.(27) Em alguns tecidos, a resposta a este fenómeno será a sobre-regulação do DNMT3b, levando à hipermetilação dos ilhéus CpG em promotores de genes específicos. Este mecanismo poderá explicar as alterações na expressão de genes, por exemplo, no desenvolvimento de determinados cancros e doença de Alzheimer.

A estrutura da cromatina engloba o ADN em associação com as histonas. O nucleossoma, a unidade básica repetitiva da cromatina, consiste em 147 pb de ADN enrolado à volta de um core de histonas de estrutura octamérica contendo cada um duas cópias das histonas H2A, 2B, H3 e H4 e compactado por associação com a histona de ligação, H1. (18, 22) Modificação das histonas após a transcrição pode alterar a conformação da cromatina e assim regular a expressão génica. (22) A diversidade na estrutura das histonas é gerada por estas modificações incluindo, acetilação, fosforilação, metilação, sumoilação, glicosilação e ADP-ribosilação. (18) Qualquer modificação é capaz de activar ou reprimir a transcrição génica dependendo da localização específica dos resíduos de aminoácidos sob modificação.(18)

Por fim, os microRNA's também desempenham um papel importante ao reprimir a expressão de alguns genes, nomeadamente, ADN metiltransferase e histona desacetilase (HDAC), e assim contribuem para os processos epigenéticos. (22)

Recentemente foram encontrados resultados promissores relativamente ao gene *mesoderm-specific transcript* (MEST), que se descobriu ser hipometilado no sangue do cordão e amostras de placenta de crianças expostas à diabetes gestacional quando comparadas com amostras não expostas. Para além disso, os autores do estudo também relataram que, quando comparados com adultos de peso normal, o gene MEST encontrava-se igualmente hipometilado em amostras de sangue obtidas de adultos com obesidade classe II e III (IMC > 35 Kg/m<sup>2</sup>). Assim, o gene MEST mostrou ser um factor envolvido no crescimento e desenvolvimento fetal e um promissor candidato à obesidade e suas complicações metabólicas.(4, 29)

Estes marcadores epigenéticos têm o potencial de modular a expressão génica, o que é um determinante major em muitas doenças. Foi, então, sugerido que estes mesmos marcadores possam representar um possível mecanismo pelo qual a exposição a um ambiente intrauterino adverso se traduza no desenvolvimento de doenças, como a obesidade e a diabetes mellitus tipo 2 entre a descendência.(3) Se estas alterações são irreversíveis ou não ainda não está totalmente esclarecido. (16)

A título de exemplo, estão descritos diversos genes potencialmente envolvidos na programação fetal e que se pensa estarem sob regulação epigenética, nomeadamente, o receptor de glucocorticoides, POMC, 11 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase, factor de libertação de corticotrofina, leptina, transportador de glucose e PPAR. Daí que seja plausível admitir que a alteração epigenética da expressão génica atribuída a uma alteração no ambiente nutricional poderá contribuir, pelo menos em parte, para a programação do metabolismo.(21)



Um estudo recente descobriu o gene PDX-1 como sendo um dos 15 genes CpG que é susceptível ao aumento da metilação por sobre-expressão de uma ADN metiltransferase, o que é de significado maior para a diabetes mellitus tipo 2.(15) Tal como já foi referido anteriormente, a RCIU foi relacionada com o desenvolvimento da diabetes tipo 2 no adulto. Em relação ao mecanismo epigenético de regulação do gene PDX-1, foi também relatada, em ilhéus isolados de fetos com RCIU, uma redução significativa na acetilação de H3 e H4 no promotor proximal do PDX-1. (10)

Também os genes da leptina e adiponectina são conhecidos como alguns dos possíveis responsáveis pela obesidade e diabetes mellitus tipo 2 uma vez que são secretados pelo tecido adiposo e estão envolvidos no metabolismo energético e regulação da sensibilidade à insulina, sendo os genes destas bem conhecidas adipocinas, óbvios candidatos para a causa de distúrbios metabólicos. (3, 6) Foram estudados no sentido de perceber o impacto da diabetes mellitus gestacional no perfil epigenético de recém-nascidos. (3) O papel da adiponectina na programação fetal é um pouco menos claro do que o papel da leptina. (3) Pensa-se que a leptina afecta a patofisiologia da diabetes mellitus gestacional e foi reportada como desempenhando um importante papel da programação fetal da obesidade.

A leptina, produto do gene da obesidade sintetizado primariamente pelo tecido adiposo e placenta actua no adulto, como factor de saciedade, diminuindo o apetite. No entanto, no feto e recém-nascido, promove o desenvolvimento das vias da saciedade. (21) Fetos e recém-nascidos com baixo peso têm as concentrações de leptina no plasma significativamente mais baixas por diminuição do tecido adiposo.(21) O aumento dos níveis de leptina na circulação materna no início da gravidez é um factor preditivo de diabetes mellitus gestacional, independentemente da adiposidade pré-gravidez. Este aumento foi atribuído, em parte, a uma acentuação da capacidade de síntese da placenta e tecido adiposo visceral, sugerindo que o

risco de diabetes mellitus gestacional está associado a um fenómeno semelhante, talvez um fenómeno epigenético, nestes dois tecidos.(3)

A adiponectina é produzida exclusivamente, e abundantemente, pelo tecido adiposo e tem propriedades sensibilizantes da insulina, anti-inflamatórias e anti-ateroscleróticas. (3) Ao contrário do que acontece com a leptina, os níveis de adiponectina estão baixos em doentes com obesidade e diabetes mellitus tipo 2. (3) Numa gravidez normal, os níveis de adiponectina circulante aumentam na primeira metade da gravidez e diminuem proporcionalmente ao ganho de peso e à resistência à insulina induzida pela gravidez. Numa gravidez complicada por diabetes mellitus gestacional os níveis de adiponectina estão mais baixos.(3)

A insulina é um dos factores major de crescimento fetal e distúrbios monogénicos que afectam a secreção da insulina fetal ou resistência à insulina fetal também afectam o crescimento fetal. (15) Mutações nos genes que codificam a glucocinase foram identificadas como resultando num baixo peso de nascimento e influenciando a idade de início da diabetes no jovem. (15) Estudos recentes sugeriram que o aumento da susceptibilidade à diabetes mellitus tipo 2 em indivíduos pequenos para a idade gestacional (PIG) também resulta da combinação de factores genéticos e um ambiente intrauterino desfavorável. Polimorfismos do PPARgama2 (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2*), um gene envolvido no desenvolvimento e na função metabólica do tecido adiposo, foi provado que modula a susceptibilidade do desenvolvimento de resistência à insulina de indivíduos nascidos pequenos para a idade gestacional. O polimorfismo está apenas associado a maior risco de diabetes mellitus tipo 2 se o peso de nascimento for reduzido. (15) Também em relação à RCIU, como já foi frisado anteriormente, o aumento dos níveis de espécies reactivas de oxigénio (ROS) inactivam os centros de ferro-enxofre da cadeia de transporte de electrões e a *tricarboxylic acid cycle aconitase*, resultando na falência da produção energética

mitocondrial. A chave da adaptação, permitindo ao feto sobreviver neste ambiente de energia limitada, poderá ser a reprogramação da função mitocondrial. No entanto, estas adaptações não têm só efeitos benéficos e, neste caso específico, a função mitocondrial poderá ter efeitos deletérios, nomeadamente, em células com elevada necessidade energética, como são as células  $\beta$ . As células  $\beta$  dependem de uma produção normal de ATP para a secreção e proliferação de insulina induzida por nutrientes. Assim, a interrupção da função mitocondrial pode ter consequências sérias para as células  $\beta$ . Para além disso, as células  $\beta$ , são especialmente vulneráveis às espécies reactivas de oxigénio (ROS), uma vez que a expressão de enzimas antioxidantes nos ilhéus pancreáticos é muito baixa e as células  $\beta$  têm uma exigência de energia oxidativa muito alta. Em suma, o aumento das espécies reactivas de oxigénio induz anomalias na secreção de insulina estimulada por glucose, diminuem a expressão de genes-chave das células  $\beta$  e induzem a morte celular. (15) A produção de espécies reactivas de oxigénio e o stresse oxidativo aumentam gradualmente em ilhéus com RCIU. A produção de ATP é anómala e ao longo dos anos mantém a deterioração. A actividade dos complexos I e III da cadeia de transporte de electrões diminui progressivamente em ilhéus com RCIU. Mutações pontuais no ADN mitocondrial acumulam-se com a idade e estão associadas à diminuição do conteúdo do ADN mitocondrial e reduzida expressão de genes de codificação mitocondrial em ilhéus com RCIU. Assim, a RCIU induz disfunção mitocondrial nas células  $\beta$  fetais levando ao aumento da produção de espécies reactivas de oxigénio, o que por sua vez lesa o ADN mitocondrial. (15)

Espécies reactivas de oxigénio (ROS) podem levar a alterações na metilação de ADN sem a modificação das sequências de base de ADN. As histonas, devido à abundância de resíduos de lisina, são também muito susceptíveis ao stresse oxidativo. (15)

O grande espectro de defeitos ao nascimento observados na descendência de mulheres com diabetes gestacional e em modelos animais pensa-se estar associado ao aumento das

espécies reactivas de oxigénio (ROS) ou, por outro lado, a diminuídos sistemas de defesa antioxidante (enzimáticos e não enzimáticos) levando ao aumento da susceptibilidade a lesões em múltiplos tecidos, incluindo rins. Nas mulheres com diabetes gestacional há evidências de aumento de stresse oxidativo e anomalias dos mecanismos de defesa antioxidantes. (30)

A produção de ROS intra-renal induzida por diabetes materna poderá exercer um efeito directo na nefrogénese *in útero*, restrição do crescimento e anomalias congénitas dos rins despoletando a programação perinatal adversa da hipertensão e lesão renal na descendência da progenitora diabética quando atingem idade adulta. Foi sugerido que vias enzimáticas antioxidantes, mais especificamente, a via da catalase (CAT) em sobreexpressão nas células dos túbulos proximais renais poderá prevenir este fenómeno. (30)

No entanto, a eficácia da suplementação de antioxidantes a mulheres grávidas com ou sem diabetes é preliminar e controversa.

#### **4. Prevenção**

Actualmente, a epidemia da diabetes incorre em grandes custos, particularmente, quando se pensa nas consequências adversas na vida futura tanto para a mãe como para a descendência. A redução da obesidade e diabetes mellitus tipo 2 deveria, desta forma, ser um objectivo major das organizações de saúde pública e dos próprios clínicos. (7)

Há um grande interesse na identificação dos mecanismos exactos pelos quais o excesso de glucose materna pode levar ao desenvolvimento de doenças no futuro da descendência, para que possam ser desenvolvidas estratégias precoces para prevenir este ciclo vicioso e destrutivo de disfunção metabólica através das gerações (7, 19) e para sinalizar os indivíduos que se encontram em maior risco de desenvolver tais distúrbios. (19) Estes

mecanismos têm vindo a ser conhecidos, restando-nos, agora, definir estratégias para intervir de forma a prevenir estas doenças programadas epigeneticamente.

O período gestacional é crucial no que diz respeito ao crescimento, desenvolvimento e mudanças fisiológicas tanto para a mãe como para o feto. Isto dá-nos um período muito curto de oportunidade para intervenção. (Fig. 3) Durante a gestação, o embrião/feto em desenvolvimento, está sujeito a “dis-metilação” e “re-metilação” e isto torna um indivíduo particularmente susceptível a interferências no seu ambiente, incluindo as que ocorrem a nível nutricional, uma vez que o processo de metilação é dependente de um adequado suprimento de folatos, colina e outras vitaminas B. (27)

#### **4.1 Prevenção pré-concepcional**

Perante uma mãe diabética, é importante informar acerca do risco da gravidez no agravamento das complicações da diabetes e alertar para os riscos potenciais da hiperglicemia e das complicações da diabetes na evolução da gravidez e recém-nascido. Dar especial importância à evidência de que o tratamento intensivo com atingimento da normoglicemia durante a pré-concepção e gravidez pode conduzir a resultados semelhantes aos das grávidas sem diabetes, devendo, desta forma, ser um objectivo a atingir. Deverá ser avaliada a capacidade de compromisso dos progenitores na adesão à terapêutica intensiva, mediante a avaliação da estrutura familiar e das vertentes psicológica, económica e sócio-profissional, assim como a necessidade de consultas frequentes. (9)

É fundamental a avaliação clínica e analítica da mulher com diabetes. Se o controlo tensional e metabólico não for adequado ou existir alguma complicação a mulher poderá ser aconselhada a protelar a gravidez. (9) Não havendo contra-indicações deverá ser delineado um plano de intervenção terapêutica com o objectivo de normalizar e estabilizar o controlo

metabólico e tensional antes e durante toda a gravidez. (9) Intensificar a terapêutica insulínica com múltiplas administrações diárias (pelo menos 4 administrações por dia) ou bomba de perfusão subcutânea de insulina, discutir o esquema insulínico com a doente e ensinar a fazer ajustes. Intensificar a auto-vigilância (4 a 8 glicemias capilares/dia) com o objectivo de normalizar a HbA1c e as glicemias capilares. (9)

Outras medidas importantes a ter em conta nestas mulheres será o tratamento prévio de qualquer infecção, controlo da hipertensão arterial (HTA), substituição de medicamentos potencialmente teratogénicos, suspender estatinas, fibratos e ácido nicotínico, iniciar a administração de ácido fólico  $\geq 400 \mu\text{g}/\text{dia}$ , administração de L-tiroxina se a hormona tireoestimulante (TSH)  $> 4,0 \mu\text{UI}/\text{ml}$ . (9)

Mulheres com antecedentes de diabetes gestacional devem ser informadas acerca do risco significativo de DMG em futuras gestações e de um maior risco de diabetes no futuro. Nestas mulheres, antes da nova gestação é aconselhável a normalização ou redução do peso, a avaliação da situação metabólica com glicemia em jejum e/ou HbA1c. Se a glicemia em jejum for igual ou superior a 110 mg/dl, proceder à prova de tolerância oral à glicose. (9)

#### **4.2 Prevenção pré-natal**

Um dos objectivos terapêuticos major deverá continuar a ser o rigoroso controlo glicémico em mulheres com diabetes gestacional e o seu tratamento. (12) A DMG é factor de risco para inúmeras complicações maternas e fetais que deverão ser consideradas e rastreadas durante a vigilância pré-natal. Com efeito, a DMG tem sido associada ao aumento da mortalidade e morbidade perinatal, nomeadamente, traumatismo no parto, como resultado da macrossomia, e aumento do número de cesarianas. (9)

A chave para a abordagem é a prevenção de todas as formas de intolerância à glucose durante a gravidez e, para além disso, o evitamento da sobrenutrição neonatal. (11) Um rastreio universal para a intolerância à glucose, envolvendo todas as mulheres grávidas, é uma medida necessária. (11) Em Portugal, este rastreio, é realizado por rotina.(9)

Deve-se encorajar uma alimentação equilibrada durante a gravidez e exercício físico regular, preferencialmente a marcha.(9, 21, 31) O adequado equilíbrio e suprimento de glucose ao feto é fundamental para uma optimização do crescimento embrionário, placentar e fetal. (31)

Em relação à abordagem com recurso à terapêutica farmacológica, é de referir que o tipo de esquema insulínico e o número de administrações são determinados consoante as necessidades individuais, controlo glicémico e estilo de vida, podendo variar entre uma e várias administrações diárias. (9) Os regimes de insulina de acção curta e intermédia são preferidos em períodos de elevada plasticidade de desenvolvimento.(7, 12, 19) O recurso à insulina ainda é o tratamento preferencialmente preconizado. (9) Em relação à utilização de antidiabéticos orais desconhece-se o efeito a longo prazo destes fármacos na programação fetal que levaria a obesidade, síndrome metabólica e diabetes mellitus no futuro adulto. (9) A utilização de metformina ainda é controversa mas há evidências que apoiam o progressivo aumento da sua segurança e eficácia.

Embora pouco seja conhecido no que diz respeito aos mecanismos envolvidos, alguns estudos epidemiológicos e experimentais referem a associação entre a nicotina materna ou exposição ao tabaco durante a gestação ou lactação e o desenvolvimento de obesidade e disfunção endócrina.(32) Consumo tabágico e alcoólico exercem profundos efeitos no crescimento e desenvolvimento dos fetos, recém-nascidos e crianças. (21) Descendência de mães fumadoras ou expostas a ambientes de elevada concentração de fumo do tabaco nascem pequenos para a idade gestacional e com maior risco de desenvolvimento de componentes da

síndrome metabólica, nomeadamente, obesidade, resistência à insulina e diabetes quando comparados com a descendência de mães não expostas ao tabaco. (21) Um ambiente livre de fumo do tabaco durante a gravidez e lactação é essencial para a redução do risco de futuras doenças.(32)

A abordagem pré-natal aguarda mais estudos explorando os mecanismos da programação do desenvolvimento, para além das consequências e benefícios de possíveis alterações da abordagem perinatal.

### **4.3 Prevenção pós-natal**

Durante o tempo de internamento os profissionais de saúde devem promover a adopção de estilos de vida saudáveis, incentivando a amamentação precoce, (9) como a melhor forma de evitamento da sobrenutrição do recém-nascido (11) O efeito a longo prazo do aleitamento materno pode ser atribuído a uma melhor regulação energética.(31) Os possíveis benefícios a curto e a longo prazo para a mãe e para a descendência, dizem respeito à redução do risco futuro de obesidade, doenças cardiovasculares e intolerância à glicose. A manutenção de um bom controlo metabólico para além do parto facilita a amamentação e melhora a composição do leite materno que parece ser crucial para os seus benefícios na criança. (9)

Antes da alta deve ficar assegurada a marcação da PTGO de reclassificação, realizada de acordo com os critérios da OMS, para 6 a 8 semanas após o parto e a consulta de reavaliação. (7, 9)

A hormona leptina está a receber cada vez mais atenção como um potencial factor de programação, como já referido anteriormente. (32) As fontes de leptina durante o período crítico de desenvolvimento incluem a transferência materna placentar de leptina, leptina



endógena fetal e também a leptina presente no leite materno durante a amamentação. (32) A evidência, em humanos, do potencial papel da leptina durante o aleitamento materno, vem da observação da correlação indirecta entre a concentração da hormona no leite materno e o aumento de peso em crianças. (32) A administração de um antagonista da leptina (com maior semi-vida comparativamente como um antagonista da leptina padrão) em modelos animais no período neonatal poderá modificar a sua resposta à obesidade induzida pelo padrão alimentar na vida adulta, no entanto, isto é dependente da nutrição materna fetal prévia e padrão alimentar após o início da transição entre a amamentação e alimentação normal. (19) Assim, a leptina poder-se-á revelar essencial durante a amamentação na protecção contra a obesidade e outros distúrbios relacionados numa fase posterior da vida e poderá ser considerada como estratégia para a reversão das adaptações pré-natais resultantes da subnutrição fetal.(32) Aporte calórico elevado no recém-nascido após um período de RCIU poderá induzir uma sobrecarga de leptina. Este mecanismo neuroendócrino está envolvido na má programação fetal levando a um excesso de crescimento de recuperação (“*catch-up growth*”) em recém-nascidos com RCIU. (16) A hiperleptinémia no período neonatal precoce irá induzir hiperfagia, excesso de peso, tendência à diabetes e problemas cardiovasculares no futuro, certamente, em situações de subnutrição fetal prévia.(16) Assim, deverão ser implementados esforços para se prevenir a restrição do crescimento intrauterino através da detecção e controlo precoce de distúrbios hipertensivos durante a gravidez e, ainda, através da optimização da nutrição da mulher grávida.(16)

A Exendin-4 neonatal (previne a redução progressiva da massa de células  $\beta$  produtoras de insulina, em modelos animais com RCIU ao longo do tempo, prevenindo, assim, o desenvolvimento de diabetes no futuro) poderá aumentar a actividade das acetilases de histonas e reverter as modificações epigenéticas que silenciam o PDX1 (regulador crítico do

desenvolvimento do pâncreas e diferenciação dos ilhéus) e posteriormente repor a expressão do PDX1 para os níveis normais, assim como a taxa de proliferação das células  $\beta$  (12, 19).

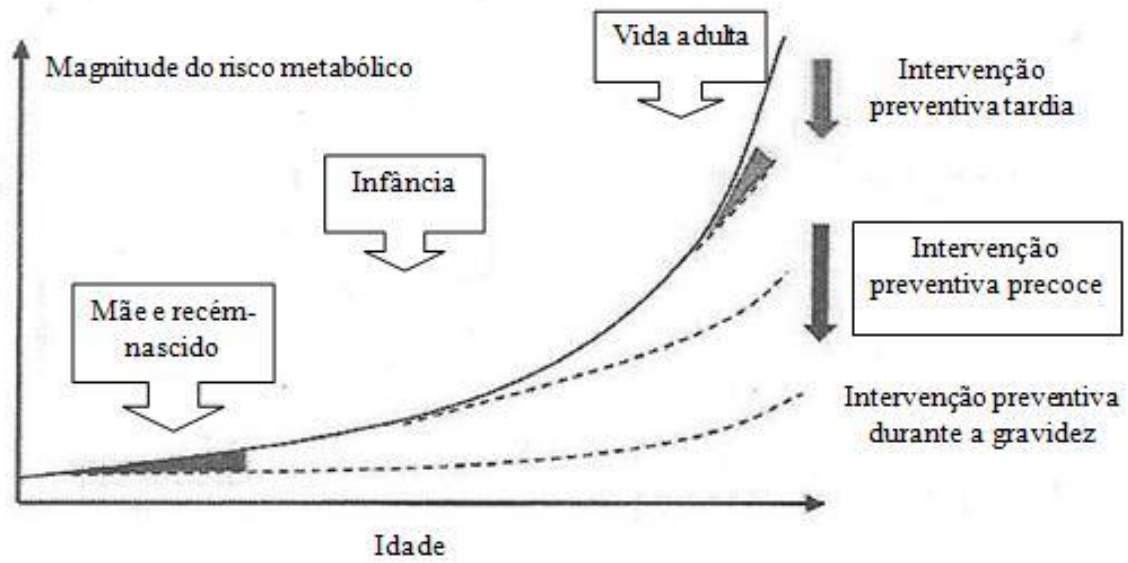
É também importante referir o papel dos fármacos derivados do GLP-1, actualmente usados na terapêutica de diabéticos tipo 2, na remodelação da cromatina.(12)

O tratamento pós-natal com resveratrol mostrou eficácia na prevenção do desenvolvimento dos sintomas de síndrome metabólico na vida adulta em recém-nascidos com RCIU induzida por hipóxia.(19)

Recentemente, dados preliminares, enaltecem o papel promissor de receptores nucleares como agentes terapêuticos na reversão da programação fetal de doenças a longo prazo.(19)

Analisando esta informação como um todo poderá haver um período crítico de oportunidade para potenciais medidas terapêuticas pós-natais, nomeadamente, intervenções para prevenir ou modificar o risco programado de diabetes e outras doenças metabólicas. (12)

A síndrome metabólica, obesidade e diabetes mellitus são doenças que reduzem a esperança de vida globalmente em todo o mundo. O dramático e exponencial aumento da sua incidência nos últimos anos representa um problema de saúde pública da maior relevância e é urgente a necessidade de delinear estratégias de prevenção. (11)



**Fig.3** Ilustração acerca dos potenciais benefícios resultantes de uma intervenção precoce no sentido da prevenção de consequências metabólicas na vida futura dos indivíduos. (Adaptado de *Symonds, 2013*) (33)

## Discussão e Conclusão

Os fenótipos de saúde e doença são consequências da interação entre a genética e a história nutricional e ambiental, tendo início desde o momento da concepção ou até mesmo previamente.

A diabetes gestacional é uma crescente preocupação a nível de saúde mundial. Está provado que esta doença tem sérias repercussões a longo prazo, tanto para mãe como para a descendência, nomeadamente, na predisposição para diabetes mellitus tipo 2, obesidade, doenças cardiovasculares, entre outras. Cada vez mais se coloca em evidência a associação entre um ambiente intrauterino adverso, nomeadamente um ambiente diabetogénico, e as modificações epigenéticas no recém-nascido. No entanto, o verdadeiro impacto destas mudanças a longo prazo ainda está por esclarecer.

As implicações da diabetes gestacional para o feto incidem essencialmente no desenvolvimento de descendência macrossómica ou com restrição do crescimento. É certo que nem todos os recém-nascidos com excesso de peso ou com restrição do crescimento intrauterino irão desenvolver algum distúrbio no futuro. Tudo dependerá de quão favorável ou deletéria foi a adaptação do mesmo ao ambiente e da plasticidade dessa adaptação. Permanecem, no entanto, algumas questões, nomeadamente, a razão pela qual em determinados indivíduos as células  $\beta$  não serem capazes de se adaptar às exigências metabólicas associadas à gravidez. Aqui entra o conceito de epigenética, que, no fundo, diz respeito a influências ambientais e alterações na expressão génica a que os indivíduos foram sujeitos durante a vida intrauterina levando à geração de fenótipos metabólicos aberrantes como a obesidade ou a diabetes.

O conhecimento do verdadeiro impacto das alterações no ambiente intrauterino a longo prazo é fundamental para provar que a epigenética está envolvida na programação metabólica fetal. Embora ambicioso, investigações futuras explorando o impacto do ambiente

fetal na programação epigenética da obesidade e diabetes e as suas perturbações metabólicas irão enfrentar numerosos desafios mas, mais importante, muitas oportunidades também.

Neste artigo de revisão, foi dirigida considerável atenção às origens do desenvolvimento de distúrbios metabólicos e cardiovasculares.

Há estudos que se estendem ao risco de outras doenças no adulto incluindo efeitos ao nível do tamanho e função dos rins, função pulmonar, função imune, capacidade de aprendizagem, envelhecimento, ovários poliquísticos e cancro. Estas associações, porém, são mais esporádicas, menos definitivas e consistentes do que a doença coronária e a diabetes. Talvez mais estudos no horizonte tragam maior clareza relativamente a este assunto.

No futuro são esperados novos estudos de todo o genoma que são cada vez mais acessíveis e de confiança, embora a análise de dados permaneça um desafio. O advento dos *microarrays* e sequenciação do ADN tem permitido que estas novas tecnologias sejam aplicadas a todo o genoma. É possível que o mapeamento das sequências CpG no genoma humano possa ser usado como uma ferramenta para identificar *loci* no genoma que são susceptíveis a metilação do ADN ou perda da metilação, assim como, as modificações de histonas por ChIP-chip levaram a importantes conclusões no que diz respeito ao mecanismo de transcrição e memória epigenética.

Modificações epigenéticas podem ser usadas como biomarcadores para doenças. Estes estudos poderão revelar novos loci extremamente relevantes envolvidos no desenvolvimento de perturbações relacionadas com a obesidade e diabetes entre a descendência de mães com DMG. Tais genes e vias metabólicas, em teoria, seriam “marcados” para a identificação de novos biomarcadores para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e preventivas aplicáveis antes, durante e após a gravidez, assim como, no seguimento destas crianças a longo prazo.

A capacidade de rastrear indivíduos de elevado risco relativamente a biomarcadores consistindo em polimorfismos ou moléculas aberrantes, metilação de genes-chave acompanhada de modificações de histonas importantes poderá permitir a identificação precoce, observação cuidada e monitorização ao longo da vida. Em particular, quando mulheres jovens atingem a idade pré-concepcional, estratégias para reverter a propagação entre gerações, seja através de suplementos simples, modificações do estilo de vida e dieta, poderão percorrer um longo caminho no sentido de controlar a presente epidemia de diabetes mellitus tipo 2 e prevenir a transmissão da doença.

O conhecimento de quais os genes e vias metabólicas que respondem ou não ao ambiente fetal será cada vez mais importante e essencial para perceber as relações entre epigenética e programação metabólica fetal.

## **Agradecimentos**

Reservo este espaço para agradecer a todos aqueles que deram a sua contribuição para a realização deste trabalho de revisão.

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, à Professora Doutora Maria Leonor Viegas Gomes por toda a orientação e tempo disponibilizado ao longo da realização deste trabalho, mostrando-se sempre prestável. Agradeço, também, todo o conhecimento e motivação transmitida.

Em segundo lugar, e com muito carinho, agradeço à minha família e amigos pelo apoio transmitido ao longo deste percurso.

## Bibliografia

1. IDF Diabetes Atlas. International Diabetes Federation, 2013.
2. Gardete Correia LB, J.M.; Fragoso de Almeida, J.P.; Massano Cardoso, S.; Dores, J.; Sequeira Duarte, J.; Duarte, R.; Ferreira, H.; Medina, J.L.; Nunes, J.S.; Pereira, M.; Raposo, J. Diabetes: Factos e Números 2013 - Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. 2013.
3. Ruchat SM, Hivert MF, Bouchard L. Epigenetic programming of obesity and diabetes by in utero exposure to gestational diabetes mellitus. *Nutrition reviews*. 2013;71 Suppl 1:S88-94.
4. Bouchard L. Epigenetics and fetal metabolic programming: a call for integrated research on larger cohorts. *Diabetes*. 2013;62(4):1026-8.
5. Fernandez-Morera JL, Rodriguez-Rodero S, Menendez-Torre E, Fraga MF. The possible role of epigenetics in gestational diabetes: cause, consequence, or both. *Obstetrics and gynecology international*. 2010;2010:605163.
6. Houde AA, Hivert MF, Bouchard L. Fetal epigenetic programming of adipokines. *Adipocyte*. 2013;2(1):41-6.
7. Vrachnis N, Antonakopoulos N, Iliodromiti Z, Dafopoulos K, Siristatidis C, Pappa KI, et al. Impact of maternal diabetes on epigenetic modifications leading to diseases in the offspring. *Experimental diabetes research*. 2012;2012:538474.
8. Yajnik CS. Fetal programming of diabetes: still so much to learn! *Diabetes care*. 2010;33(5):1146-8.
9. Relatório de Consenso sobre Diabetes e Gravidez. 2011.
10. Yan J, Yang H. Gestational diabetes mellitus, programming and epigenetics. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of*



Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet. 2013.

11. Plagemann A. Maternal diabetes and perinatal programming. *Early human development*. 2011;87(11):743-7.
12. Portha B, Chavey A, Movassat J. Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. *Experimental diabetes research*. 2011;2011:105076.
13. Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, Pedersen O, Jensen DM, Lauenborg J, et al. Overweight and the metabolic syndrome in adult offspring of women with diet-treated gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94(7):2464-70.
14. Fisher RE, Steele M, Karrow NA. Fetal programming of the neuroendocrine-immune system and metabolic disease. *Journal of pregnancy*. 2012;2012:792934.
15. Simmons RA. Role of metabolic programming in the pathogenesis of beta-cell failure in postnatal life. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 2007;8(2):95-104.
16. Galjaard S, Devlieger R, Van Assche FA. Fetal growth and developmental programming. *Journal of perinatal medicine*. 2013;41(1):101-5.
17. Remacle C, Dumortier O, Bol V, Goosse K, Romanus P, Theys N, et al. Intrauterine programming of the endocrine pancreas. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2007;9 Suppl 2:196-209.
18. Pinney SE, Simmons RA. Metabolic programming, epigenetics, and gestational diabetes mellitus. *Current diabetes reports*. 2012;12(1):67-74.
19. Wang XM. Early life programming and metabolic syndrome. *World journal of pediatrics : WJP*. 2013;9(1):5-8.

20. Lehnen H, Zechner U, Haaf T. Epigenetics of gestational diabetes mellitus and offspring health: the time for action is in early stages of life. *Molecular human reproduction*. 2013;19(7):415-22.
21. Lau C, Rogers JM, Desai M, Ross MG. Fetal programming of adult disease: implications for prenatal care. *Obstetrics and gynecology*. 2011;117(4):978-85.
22. Gallo LA, Tran M, Master JS, Moritz KM, Wlodek ME. Maternal adaptations and inheritance in the transgenerational programming of adult disease. *Cell and tissue research*. 2012;349(3):863-80.
23. Devaskar SU, Thamocharan M. Metabolic programming in the pathogenesis of insulin resistance. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 2007;8(2):105-13.
24. Yajnik CS, Godbole K, Otv SR, Lubree HG. Fetal programming of type 2 diabetes: is sex important? *Diabetes care*. 2007;30(10):2754-5.
25. Singh R, Pearson E, Avery PJ, McCarthy MI, Levy JC, Hitman GA, et al. Reduced beta cell function in offspring of mothers with young-onset type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2006;49(8):1876-80.
26. McLean M, Chipps D, Cheung NW. Mother to child transmission of diabetes mellitus: does gestational diabetes program Type 2 diabetes in the next generation? *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2006;23(11):1213-5.
27. McMullen S, Langley-Evans SC, Gambling L, Lang C, Swali A, McArdle HJ. A common cause for a common phenotype: the gatekeeper hypothesis in fetal programming. *Medical hypotheses*. 2012;78(1):88-94.
28. Koletzko B, Symonds ME, Olsen SF, Early Nutrition Programming P, Early Nutrition A. Programming research: where are we and where do we go from here? *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(6 Suppl):2036S-43S.

29. El Hajj N, Pliushch G, Schneider E, Dittrich M, Muller T, Korenkov M, et al. Metabolic programming of MEST DNA methylation by intrauterine exposure to gestational diabetes mellitus. *Diabetes*. 2013;62(4):1320-8.
30. Chang SY, Chen YW, Zhao XP, Chenier I, Tran S, Sauve A, et al. Catalase prevents maternal diabetes-induced perinatal programming via the Nrf2-HO-1 defense system. *Diabetes*. 2012;61(10):2565-74.
31. Guilloteau P, Zabielski R, Hammon HM, Metges CC. Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2009;60 Suppl 3:17-35.
32. Pico C, Palou A. Perinatal programming of obesity: an introduction to the topic. *Frontiers in physiology*. 2013;4:255.
33. Symonds ME, Mendez MA, Meltzer HM, Koletzko B, Godfrey K, Forsyth S, et al. Early life nutritional programming of obesity: mother-child cohort studies. *Annals of nutrition & metabolism*. 2013;62(2):137-45.